

---

**ALMA MATER STUDIORUM-UNIVERSITA' DI BOLOGNA  
CAMPUS DI CESENA  
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**METODI DI STIMOLAZIONE  
TRANSCRANICA: TMS E tDCS A  
CONFRONTO**

Elaborato in:  
Strumentazione biomedica

Relatore  
Cristiano Cuppini

Presentato da  
Sara Morotti

Sessione II

Anno Accademico 2015-2016

# INDICE

INTRODUZIONE.....	1
CAP 1: LA TMS.....	2
1.1 PRINCIPI FISICI E DI FUNZIONAMENTO.....	3
1.2 PROGETTAZIONE DELLO STIMOLATORE.....	5
1.2.1 Tipologie di circuiti.....	5
1.2.2 Design della bobina.....	9
1.2.3 Settaggio dei parametri.....	10
1.2.4 Posizionamento della bobina e localizzazione.....	12
1.3 TIPOLOGIE DI STIMOLAZIONE E APPLICAZIONI.....	13
1.3.1 TMS a singolo impulso.....	13
a. TMS a singolo impulso e sistema motorio.....	14
b. TMS a singolo impulso in ambito clinico e sperimentale.....	20
1.3.2 TMS a doppio impulso.....	22
a. ppTMS in ambito diagnostico.....	23
b. ppTMS in ambito clinico.....	23
c. ppTMS in ambito sperimentale.....	23
d. Uso concomitante della ppTMS e TMS a singolo impulso.....	25
1.3.3 rTMS.....	26
a. Tipologie di stimolazione rTMS.....	27
b. Applicazioni della rTMS in ambito sperimentale.....	28
c. Utilizzo della rTMS in concomitanza con altre tecniche.....	30
1.4 APPLICAZIONI IN VIA DI SVILUPPO E LIMITI DELLA TECNICA.....	31
1.4.1 TMS e disturbi neurologici.....	32
1.4.2 TMS e emicrania.....	33
1.4.3 TMS e disturbi depressivi.....	34
1.4.4 TMS in ambito operatorio.....	34
1.4.5 Limiti della TMS.....	36

<b>CAP 2: LA tDCS.....</b>	<b>38</b>
<b>2.1 PRINCIPI FISICI E DI FUNZIONAMENTO.....</b>	<b>40</b>
<b>2.2 STRUMENTAZIONE tDCS.....</b>	<b>41</b>
2.2.1 Funzionamento e posizionamento degli elettrodi.....	41
2.2.2 Modelli computazionali.....	44
2.2.3 Parametri fisici e strumentali per la stimolazione.....	45
<b>2.3 TIPOLOGIE DI STIMOLAZIONE E APPLICAZIONI.....</b>	<b>49</b>
2.3.1 La tDCS.....	49
a. tDCS e ambito linguistico.....	50
b. tDCS e emicrania.....	52
c. tDCS e memoria.....	52
d. tDCS e disturbi depressivi.....	54
2.3.2 la tACS.....	56
2.3.3 la rTNS.....	56
<b>2.4 FUTURO E PROBLEMATICHE DELLA TECNICA.....</b>	<b>57</b>
2.4.1 I limiti della tDCS.....	58
2.4.2 tDCS e sicurezza.....	59
2.4.3 tDCS e modelli computazionali futuri.....	60
2.4.4 Considerazioni finali.....	62
<b>CAP 3: IL CONFRONTO.....</b>	<b>63</b>
<b>3.1 CONSIDERAZIONI GENERALI SULLE DUE TECNICHE.....</b>	<b>64</b>
<b>3.2 SICUREZZA.....</b>	<b>64</b>
<b>3.3 STRUMENTAZIONE E PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO.....</b>	<b>65</b>
<b>3.4 MODALITA' DI STIMOLAZIONE E AMBITI DI APPLICAZIONE...67</b>	<b>67</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>69</b>
<b>SITOGRAFIA.....</b>	<b>70</b>



## INTRODUZIONE

Nel corso degli ultimi decenni si sono presentate sempre più numerose problematiche che colpiscono l'uomo a livello del sistema nervoso centrale. Il progressivo innalzamento dell'età media, fattori di tipo genetico e uno stile di vita non adeguato hanno contribuito all'incremento di questo genere di patologie. Molte di esse possono essere gravi o invalidanti e i meccanismi che le regolano sono ancora poco conosciuti. Naturalmente, a livello del sistema nervoso centrale, l'organo più colpito è soprattutto il cervello, sede di processi motori e cognitivi che caratterizzano l'essere umano. È dunque risultato necessario intraprendere delle ricerche in ambito scientifico al fine di far luce sui meccanismi che contraddistinguono il funzionamento cerebrale. A questo scopo negli ultimi anni si è assistito a un rapido progresso nell'ambito delle neuroscienze per quanto riguarda le tecniche di stimolazione transcranica, che hanno cercato di sofferire alle cure farmacologiche là dove risultavano inefficaci. Queste tecniche hanno l'enorme vantaggio di garantire un'analisi accurata, sia di tipo fisiologico che comportamentale, in diverse applicazioni risultando allo stesso tempo totalmente non invasive per il paziente. Tra le varie possibilità spiccano in particolare per le loro applicazioni cliniche e il loro impiego in ambito sperimentale la TMS (Stimolazione Magnetica Transcranica) e la tDCS (stimolazione transcranica con corrente diretta). Scopo di questo elaborato è descrivere in dettaglio ambo le tecniche sia dal punto di vista strumentale e funzionale, sia da quello applicativo, per poi metterle a confronto e analizzarne i vantaggi in determinati ambiti e l'utilizzo in applicazioni future nonché i limiti che ancora esse presentano per quanto riguarda l'analisi neurologica della mente umana.

## CAP1:LA TMS

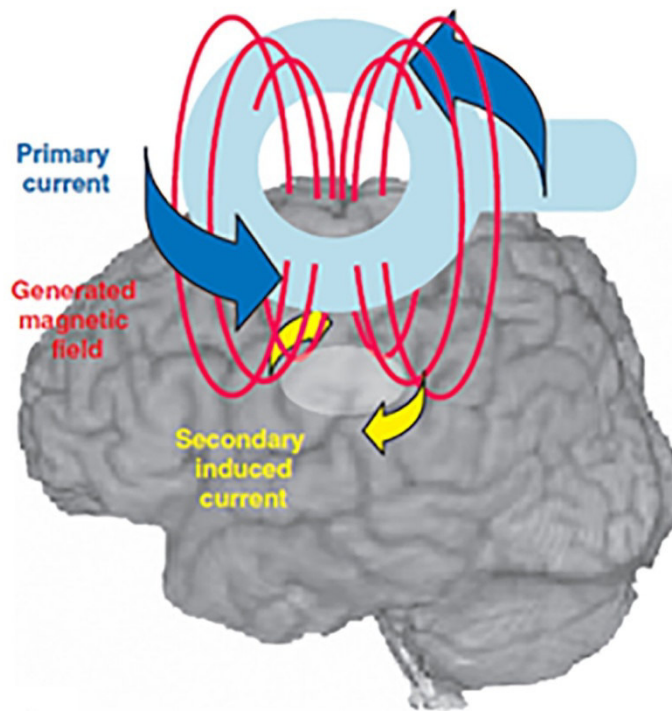
La stimolazione magnetica transcranica (TMS) è una metodologia non invasiva utilizzata in ambito neurofisiologico che si basa sull'induzione di una corrente elettrica nel tessuto cerebrale in grado di stimolare i tessuti nervosi del cervello (tra cui la corteccia cerebrale, le radici spinali e i nervi cranici e periferici) per mezzo di un campo magnetico esterno. Questa tecnica può essere utilizzata per interrompere la funzione di un'area scelta del cervello, mappare l'area corticale a livello funzionale, valutare l'eccitabilità corticale o addirittura modulare il suo livello di attività inviando un treno di impulsi ripetuti. La TMS viene ampiamente utilizzata anche per indagare aspetti più complessi della mente umana, come per esempio l'apprendimento, l'ambito cognitivo, ma anche le funzioni sensoriali e motorie. Recentemente ha visto un suo sviluppo anche come tecnica di diagnosi e cura per quanto riguarda una varietà di disordini neurologici e neuropsichiatrici.

I primi resoconti che documentano l'attivazione del cervello umano per mezzo di un campo elettromagnetico apparvero già nel 1896. Jacques-Arsène d'Arsonval e, più tardi, Sylvanus P. Thomson (1910), dimostrarono che posizionando il capo in prossimità di una bobina elettrica generante un campo magnetico che variava nel tempo, si inducevano fosfeni, cioè sensazioni visive luminose, e vertigini. Successivamente altri studi vennero realizzati allo scopo di perfezionare la tecnica, così da poter stimolare in maniera selettiva i nervi periferici o indurre contrazioni muscolari. Tuttavia tutte queste tecniche erano di difficile applicazione, poiché provocavano un eccessivo surriscaldamento delle aree interessate. Inoltre non era possibile indirizzare l'interferenza generata dalla stimolazione ottenuta per mezzo del campo magnetico. Infine la tecnologia disponibile all'epoca non era in grado di creare un campo magnetico abbastanza intenso che potesse anche variare nel tempo in modo sufficientemente rapido. Tra la fine degli anni '70 e l'inizio degli anni '80 del secolo scorso, grazie ai progressi tecnologici che si erano ottenuti nel frattempo, Anthony Barker e i suoi collaboratori all'università di Sheffield in Inghilterra, riuscirono finalmente a superare questi problemi e svilupparono un dispositivo in grado di generare campi magnetici di picco fino a 2 T. Il loro lavoro, presentato ufficialmente nel 1985 (Barker AT et al, 1985), fu il punto di partenza per lo sviluppo

di un dispositivo stabile e affidabile, nonché commerciabile. Nel corso degli ultimi 20 anni, l'applicazione della TMS nelle ricerche di neurologia clinica e neuroscienza si sono sviluppate costantemente, anche grazie ad ulteriori miglioramenti in campo tecnologico, quali per esempio la forma delle bobine e lo sviluppo di stimolatori in grado di garantire rapide velocità di scarica. Uno dei maggiori pregi di questa tecnica è la sua non invasività e relativa sicurezza di utilizzo, anche quando applicata in concomitanza con altre tipologie di analisi. L'utilizzo di campi magnetici, infatti, permette di giungere ad analizzare le cellule nervose attraversando lo scalpo in maniera indolore e, seguendo le norme guida di sicurezza, senza particolari effetti indesiderati.

## **1.1 PRINCIPI FISICI E DI FUNZIONAMENTO**

Le basi fisiche della TMS si appoggiano sui principi dell'induzione elettromagnetica scoperta da Michael Faraday nel 1831. La legge di Faraday impone che un breve impulso elettrico in corrente alternata che attraversa una bobina all'interno di un cavo, generi un forte, seppur transitorio, campo magnetico. Posizionando la bobina vicino allo scalpo del paziente, l'impulso del campo magnetico indotto attraversa lo scalpo stesso e il cranio raggiungendo così il tessuto sottostante senza essere teoricamente attenuato, e decadendo quindi solamente con la distanza. Essendo il campo generato tempo-variante, esso induce a sua volta una corrente elettrica secondaria all'interno del tessuto nervoso, in direzione opposta alla corrente di partenza (figura 1). Questo effetto è paragonabile ad esempio a quello che si ottiene considerando due spire vicine. Per la legge di Faraday-Neumann-Lenz infatti, facendo scorrere una corrente variabile nella prima spira si ottiene una variazione del campo magnetico concatenato alla seconda



**Figura 1:** rappresentazione schematica della corrente indotta per mezzo di una bobina circolare. Il campo magnetico indotto combina la corrente primaria passante nella bobina con la corrente secondaria indotta all'interno dei tessuti neuronali.

spira. Questa a sua volta produce una forza elettromotrice indotta sul secondo circuito pari alla derivata del flusso del campo magnetico nel tempo cambiata di segno e, conseguentemente, una corrente elettrica che si oppone a quella che l'ha generata.

$$\varepsilon = - \frac{d\Phi B}{dt}$$

Il modulo del campo elettrico e la corrente indotta sono entrambi proporzionali alla velocità con cui cambia il campo magnetico, e di conseguenza lo è anche l'effetto che essi hanno sulle aree cerebrali. Ma la variazione della corrente primaria determina anche una variazione del flusso magnetico concatenato con il circuito stesso all'interno della bobina, generando un fenomeno di autoinduzione proporzionale all'induttanza del circuito.

$$\varepsilon_L = -L \frac{dI}{dt}$$

Dunque l'energia effettiva immagazzinata nel campo magnetico è proporzionale all'induttanza e alla corrente secondo la relazione qui di seguito.



$$J_L = \frac{1}{2}LI^2$$

Come risultato del flusso ionico indotto nella materia cerebrale mediante questo processo, vengono attivati i potenziali d'azione dei neuroni che si trovano all'interno dell'area influenzata dalla corrente indotta. A questa attivazione segue un successivo periodo di disattivazione neuronale, che è dato presumibilmente da dei prolungati IPSP (potenziali postsinaptici inibitori). La TMS dunque interrompe la normale attività cerebrale producendo anche un periodo transitorio e reversibile di “rottura” cerebrale, che viene denominato “lesione virtuale”.

## 1.2 PROGETTAZIONE DELLO STIMOLATORE

Nonostante i principi di funzionamento della TMS possano a prima vista risultare relativamente semplici, le diverse conformazioni di design e circuiteria, la variazione di numerosi parametri fisici e il posizionamento della bobina, concorrono nel rendere la TMS una tecnica alquanto articolata, andando ad incidere sulle sue prestazioni. Ognuno di questi aspetti verrà descritto diffusamente qui di seguito.

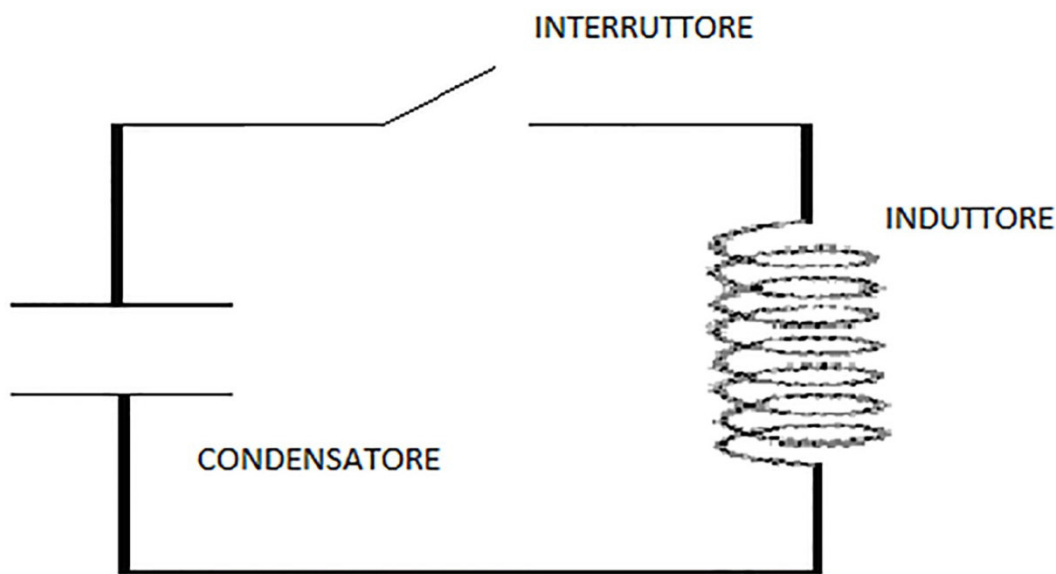
### 1.2.1 Tipologie di circuiti

Per quanto riguarda i suoi componenti fondamentali di circuiteria, la TMS ha un set-up relativamente semplice. Un macchinario standard per la TMS è composto infatti da un'unità principale (sistema di carica, uno o più condensatori per l'accumulo di energia, un interruttore di scarica, circuiti per il modellamento della forma degli impulsi, un sistema di recupero di energia e funzioni di controllo) e dalla bobina per la stimolazione.

Il dispositivo è schematizzabile nel circuito base della **figura 2**.

Inizialmente si carica il condensatore. Quando l'interruttore è aperto la corrente viene considerata a 0 (con riferimento alla bobina).

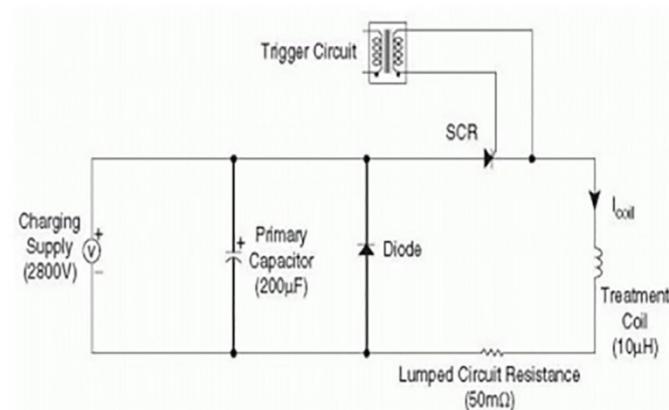
Successivamente, viene chiuso l'interruttore e la corrente è libera di scorrere nella bobina, qui rappresentata come induttanza. L'effetto di autoinduzione della bobina previsto dalla legge di Faraday-Neumann-Lenz e la resistenza intrinseca del circuito causano poi la scarica del



**Figura 2: circuito semplificato dello stimolatore TMS**

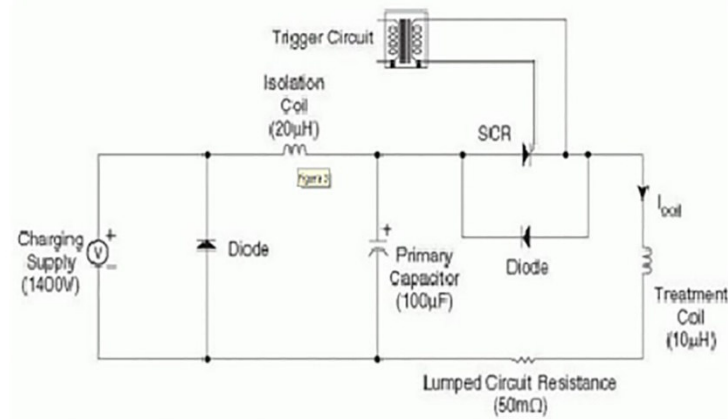
condensatore, che può essere successivamente ricaricato. Al di là di questo modello semplificato che bene si presta a mostrare il concetto di funzionamento della TMS, si possono distinguere due circuiti più complessi che stanno alla base di due tipologie di stimolazione diverse: lo stimolatore monofasico e lo stimolatore bifasico. Lo stimolatore monofasico (figura 3) comprende innanzitutto, nella sua configurazione più semplice, un'unità di carica ad alto voltaggio (che solitamente opera a 50-60  $Hz$  nel caso ottimale) che viene utilizzata per caricare un condensatore elettrolitico, parte fondamentale del circuito. È possibile utilizzare questo tipo di condensatore (solitamente da 100-500  $\mu F$ ) in quanto la presenza di un diodo blocca e mantiene positiva la tensione ai capi del condensatore stesso. Questa scelta rappresenta un vantaggio in quanto i condensatori elettrolitici sono piccoli, leggeri e a basso costo. Nonostante le loro dimensioni però, i condensatori normalmente utilizzati per i circuiti TMS possono immagazzinare fino a ben 2000J di energia. La bobina, rappresentata da un'induttanza di 10-25  $\mu H$ , il circuito di trigger e la resistenza rappresentante quella dell'intero sistema terminano la struttura del circuito. Una volta che il condensatore è carico, il circuito di trigger chiude l'interruttore

permettendo il passaggio di corrente. Il trigger solitamente è rappresentato da un tiristore (o un SCR), un dispositivo elettronico in grado di trasmettere correnti elevate in pochi microsecondi. Esso può trasmettere fino a 500J in  $100\ \mu s$ . Una volta che la corrente arriva al massimo e comincia l'inversione di polarizzazione, il diodo comincia a condurre e l'energia viene dissipata attraverso la resistenza. Il condensatore deve poi essere completamente ricaricato per ottenere l'impulso successivo. Tale circuito risulta inefficiente in quanto meno della metà dell'energia immagazzinata nel condensatore viene di fatto utilizzata per la produzione dell'impulso magnetico, la restante è dissipata per effetto Joule ed è inoltre necessario ricaricare completamente il condensatore per il ciclo successivo. Questo tipo di circuito viene utilizzato in particolare per le stimolazioni a singolo impulso.



**Figura 3: circuito stimolatore monofasico**

Diverso è il funzionamento dello stimolatore bifasico (figura 4). Esso è di fondamentale importanza per quelle applicazioni che necessitano di intervalli di interpulso brevi e di rapide ricariche del condensatore. Il circuito dello stimolatore bifasico è simile a quello del monofasico, ad eccezione del condensatore, che non è bloccato.



**Figura 4: circuito stimolatore bifasico**

Pertanto il suo voltaggio può spaziare tra valori positivi e negativi alla frequenza di risonanza. Questo però rende necessario che il condensatore sia non polarizzato e che venga aggiunto un diodo shunt, o deviatore di corrente, che possa permettere alla corrente inversa di bypassare il tiristore (o SCR). Un vantaggio di questo design è che l'energia viene restituita al condensatore dalla metà del ciclo. Alla fine del ciclo si ha una tensione residua pari al 50-80% dell'originale. Ciò riduce la durata minima dell'intervallo interimpulso e la potenza totale richiesta per una sessione di più impulsi. Ecco perché il bifasico è il design più utilizzato per la rTMS, particolare tecnica di stimolazione di cui si parlerà in seguito. Infine, occorre naturalmente prestare attenzione in ambo i casi durante la progettazione della strumentazione alla gestione delle resistenze, induttanze e capacità parassite per ottimizzare la performance ed eliminare artefatti e rumore, nonché al corretto funzionamento dell'alimentatore mentre il condensatore è ricaricato dalla corrente in ritorno dall'induttore. A questo scopo spesso si isola l'alimentazione con una bobina di arresto e si blocca la tensione inversa con un diodo. Per quanto riguarda la bobina, naturalmente essa deve possedere una bassa impedenza (solitamente  $<1\Omega$ ) per favorire il passaggio veloce della corrente. Le cellule neurali stimulate infatti,

funzionano in modo simile a piccoli condensatori che disperdono energia (Reilly, 1989; Roth and Basser 1990), pertanto più un impulso è di lunga durata, più diventa inefficace. Tuttavia occorre valutare allo stesso tempo, anche in questo caso come per gli altri componenti, quale sia l'impedenza ottimale per non subire eccessive perdite di energia o surriscaldamento del dispositivo.

### **1.2.2 Design della bobina**

Come anticipato, anche il design della bobina influisce sulle prestazioni della TMS. Esistono infatti due design principali: circolare e a 8. Le bobine di tipo circolare generano una corrente più vasta e diffusa e sono utili per stimolare le aree corticali relativamente ampie. Attraverso questo tipo di bobina è possibile, ad esempio, effettuare una stimolazione biemisferica, che è particolarmente vantaggiosa nello studio dei tempi di conduzione dei centri motori. Le bobine a 8 (figure of eight) invece sono più focalizzate grazie a un massimo della corrente, e quindi del campo magnetico, che si viene a creare all'intersezione dei due anelli ad ali. Di conseguenza questa seconda tipologia di bobina, detta anche "a farfalla", viene utilizzata per la stimolazione di un'area più circoscritta (figura 5) ed è utile per focalizzare aree mirate.

Generalmente si è osservato a livello sperimentale che l'area interessata dalla stimolazione per mezzo di una bobina a 8 abbia una risoluzione spaziale di  $1\text{ cm}^2$  con una profondità di penetrazione di circa  $2\text{ cm}^2$ , mentre nel caso di una bobina circolare, la profondità registrata è piuttosto inferiore. Tuttavia occorre tener conto che i valori riportati sono per lo più approssimazioni matematiche. Essi infatti variano notevolmente da soggetto a soggetto, soprattutto se il paziente risulta affetto da patologie quali ictus o da danni cerebrali di diversa origine. A volte viene utilizzata anche una combinazione di bobine multiple per permettere una precisa focalizzazione del campo elettrico indotto attraverso la sovrapposizione di molti campi in differenti posizioni all'interno della materia cerebrale, ma molto spesso l'aumento di complessità che questo tipo di stimolazione comporta non la rende una soluzione conveniente a questo tipo di problema. Inoltre, l'aumento delle variabili in gioco rende difficile sia regolare ciascun set di parametri, sia prevedere quali effetti possano avere i campi in diversi punti dell'area. Da questa osservazione

si comprende l'importanza fondamentale dei parametri che regolano la TMS.

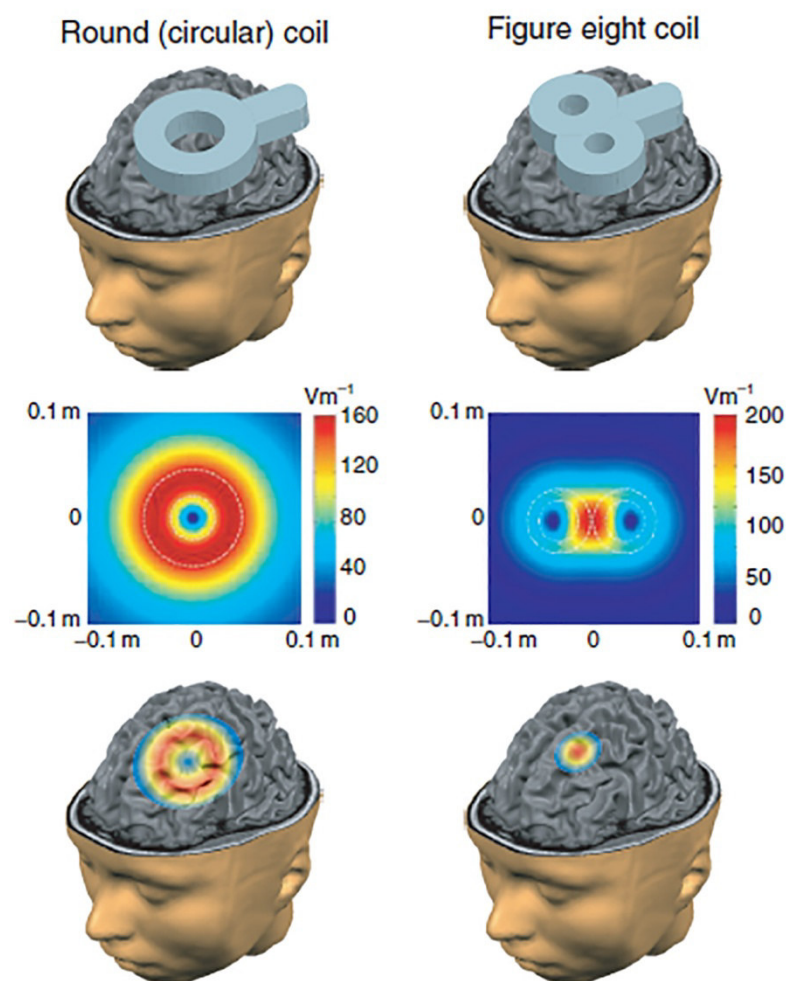


Figura 5: bobina “figure of eight” e circolare. La risoluzione spaziale della bobina a 8 è molto maggiore rispetto al suo corrispettivo circolare, garantendo una localizzazione più precisa

### 1.2.3 Settaggio dei parametri

Esistono diversi parametri che influiscono sul funzionamento della TMS: il picco di scarica, la frequenza di stimolazione, l'intensità di stimolazione, la configurazione e l'orientamento della bobina da cui dipendono la profondità spaziale e la risoluzione, il voltaggio di corrente e la geometria della bobina.

In primo luogo, allo scopo di indurre correnti nel cervello di sufficiente intensità da depolarizzare gli elementi neurali, è necessario che il picco di scarica della corrente sia dell'ordine di qualche migliaio di Ampere

( approssimativamente  $10 \text{ mA cm}^{-2}$ ). Tuttavia, gli effetti di questa corrente indotta sul tessuto nervoso non dipendono solo da questo parametro, ma anche da diversi altri. Primi fra tutti la frequenza e l'intensità di stimolazione. In base alla frequenza dello stimolo TMS inviato infatti, si determinano in maniera critica gli effetti della TMS sulla regione scelta del cervello inducendone reazioni differenti tra loro. Solitamente per questioni di sicurezza non si superano comunque i  $20 \text{ Hz}$ . Per quanto riguarda l'intensità invece, essa deve tener conto della differente suscettibilità alla TMS delle varie regioni corticali e anche di quelle tra i vari soggetti. L'utilizzo della stessa intensità su diversi soggetti e aree infatti, potrebbe indurre un sostanziale grado di variabilità nei dati raccolti, nonché potrebbe portare a un eccessivo o insufficiente grado di stimolazione nel paziente a seconda del caso in considerazione. Pertanto, ove possibile, l'intensità dovrebbe essere regolata in base al caso utilizzando misure funzionali, ad esempio la soglia di soppressione visiva o di fosfeni, la soglia della corteccia motoria o la soglia di interruzione di processi mirati. Naturalmente la corrente indotta è strettamente correlata al campo magnetico e alla corrente primaria. Il voltaggio della corrente primaria e l'orientamento della bobina concorrono nell'influenzare l'intensità e la forma del campo magnetico e, di conseguenza, la densità e la risoluzione spaziale della corrente secondaria indotta all'interno del tessuto cerebrale, corrente precedentemente descritta. La risoluzione spaziale della TMS, diversamente da quella temporale, rappresenta un parametro che dà luogo ad alcuni problemi. Infatti, mentre la risoluzione temporale può essere molto elevata, soprattutto nel caso della TMS a singolo impulso, e può fornire informazioni per quanto riguarda le funzioni cerebrali nell'arco di millisecondi, la risoluzione spaziale va incontro ad alcune limitazioni. Come accennato in precedenza infatti, anche la bobina a 8 che genera un impulso più mirato, può raggiungere circa  $2 \text{ cm}^2$  di profondità. Effettuare stimolazioni a una profondità maggiore è possibile, anche se è necessario un maggior impiego di corrente, ma in questo modo si va a compromettere la risoluzione spaziale. Una soluzione a questo problema è stata trovata in alcuni casi utilizzando un design più innovativo per le bobine, che modifica il decadimento del campo magnetico con la distanza. Anche se si utilizzano queste bobine però, la stimolazione di strutture più vicine al dispositivo rimane comunque la massima che si può ottenere e la focalizzazione della stimolazione diminuisce anch'essa con la distanza. Perciò una

stimolazione selettiva, diretta e precisa delle strutture cerebrali più interne non è ancora possibile per mezzo di stimolazioni con corrente.

#### **1.2.4 Posizionamento della bobina e localizzazione**

Per comprendere appieno l'influenza della stimolazione TMS sul tessuto cerebrale, di cui si parlerà in maniera approfondita successivamente, è necessario descrivere brevemente alcune caratteristiche funzionali dei neuroni. Come è peculiare del sistema nervoso, le fibre nervose sono suscettibili a stimolazioni di tipo elettrico. Tuttavia esse reagiscono diversamente a seconda del punto interessato dalla stimolazione. Il sito di stimolazione di una fibra nervosa è il punto nella sua lunghezza in cui una quantità di corrente sufficiente può causare una depolarizzazione passante attraverso la sua membrana. Questa depolarizzazione, che nel caso in questione può essere generata per mezzo della TMS ma è presente anche durante la normale attività cerebrale, è all'origine di un impulso elettrico che modula in base alla cosiddetta "funzione di attivazione". Essa può essere descritta matematicamente come la derivata spaziale del campo elettrico lungo i nervi e sarà quindi massima nel punto in cui la derivata del campo elettrico indotto è massima. Un impulso inviato in questo punto dunque, se sufficientemente intenso, può modulare l'attività cerebrale in modo significativo quando in altri punti non avrebbe alcun effetto. Su questo concetto si basa l'influenza della TMS sul tessuto cerebrale.

Per quanto riguarda il punto di applicazione dello stimolo, occorre tener conto che la TMS sembra attivare le cellule nervose o agendo in maniera indiretta sul corpo centrale, o suscitando un'onda diretta sulle loro collinette assoniche. Questo duplice risultato è stato osservato con misurazioni sul midollo spinale, dove si è ottenuta un'onda diretta (primo spike), seguita in successione da un massimo di quattro ulteriori onde indirette, ma la stessa reazione è stata riportata posizionando la bobina tangenzialmente alla superficie dello scalpo.

Una volta tenuto conto di questo aspetto, il posizionamento delle bobine per la stimolazione si può ulteriormente distinguere in base al metodo di localizzazione. Esse possono essere infatti posizionate sull'area cerebrale sia in base anatomica sia funzionale. Per quanto riguarda la localizzazione funzionale, essa si basa sul variare il



posizionamento della bobina fino a quando una qualche funzione del paziente non viene attivata o interrotta. Questo metodo viene utilizzato spesso per individuare, ad esempio, la corteccia motoria primaria e quella visiva cercando di localizzare la posizione della bobina che dà come risultato l'attivazione rispettivamente del muscolo controlaterale della mano o la manifestazione visiva di fosfeni. Per quanto riguarda invece la localizzazione anatomica di determinate strutture cerebrali, viene utilizzato uno scan con la tomografia a risonanza magnetica (MRI), che può essere coregistrato a un sistema di neuronavigazione allo scopo di individuare anticipatamente la zona che si vuole stimolare per mezzo della TMS. In alternativa all'MRI è possibile utilizzare anche un set di coordinate standardizzate o posizioni dello scalpo per stimare la localizzazione corrispondente appropriata sul capo del paziente. In ogni caso questo tipo di localizzazione richiede dunque il supporto di altri mezzi.

### **1.3 TIPOLOGIE DI STIMOLAZIONE E APPLICAZIONI**

Nel corso degli anni sono stati sviluppati diversi metodi di stimolazione TMS che hanno reso la tecnica estremamente utile e applicabile a una varietà di ambiti differenti tra loro. Questi metodi spaziano dalla TMS a singolo impulso, alla ppTMS, alla rTMS fino a giungere, più recentemente, alla TMS a tripla stimolazione.

#### **1.3.1 TMS a singolo impulso**

La TMS a singolo impulso è stato il primo metodo di stimolazione TMS utilizzato. Essa consiste in un singolo impulso TMS che viene inviato alla zona cerebrale designata permettendone così uno studio piuttosto approfondito. Una stimolazione di questo tipo è in grado di produrre delle risposte istantanee i cui effetti decadono immediatamente, a differenza di altri tipi di stimolazione. Grazie a questa caratteristica di transitorietà si può ottenere un'alta risoluzione temporale (inferiore a 1 secondo) riguardo al funzionamento dei processi cognitivi, riuscendo ad osservare come essi si modificano sia in tempi di reazione sia in accuratezza in diversi istanti temporali.

Questo tipo di TMS ha trovato applicazione in ambito clinico, diagnostico e sperimentale. Una delle sue fondamentali applicazioni, che trova spazio in tutti e tre gli ambiti sopracitati, è quella di analisi del campo motorio. Per questo si ritiene opportuno menzionarlo a parte e descriverlo in dettaglio.

#### **a. TMS a singolo impulso e sistema motorio**

Lo studio del sistema motorio è stato uno dei primi campi di applicazione della TMS e ricopre tutt'oggi un posto di grande interesse nell'utilizzo della tecnica in neurofisiologia clinica. La TMS inviata a diversi livelli del sistema nervoso (o neuroasse) può infatti fornire informazioni riguardanti l'eccitabilità della corteccia motoria, l'integrità funzionale delle strutture dei neuroni intercorticali e la conduzione lungo le fibre corticospinali, corticonucleari e callose, così come le funzioni delle radici nervose ed il percorso periferico motorio fino ai muscoli. Questi studi possono essere di fondamentale importanza nel localizzare, ad esempio, il livello di una lesione all'interno del sistema nervoso, o distinguere tra una demielinizzazione predominante e una lesione assonale nel tratto motore o ancora predire la risposta motoria funzionale dopo un infortunio. Tutte queste applicazioni della TMS in ambito motorio sono possibili grazie all'individuazione di parametri fondamentali che saranno descritti qui di seguito: il MEP, il CMCT e la MT.

### **II MEP**

Il MEP, o potenziale motorio indotto, è un potenziale che è possibile suscitare per mezzo della stimolazione TMS in un'area scelta della corteccia motoria. Ad esempio, se si applica un impulso TMS sulla rappresentazione della mano nella corteccia motoria, si può suscitare una contrazione del muscolo controlaterale della mano e registrare un MEP. Si può calcolare così il tempo di conduzione neuronale di un segnale motore sottraendo la latenza del potenziale indotto con la stimolazione direttamente sul muscolo scelto, alla latenza del potenziale motorio indotto nel muscolo stimolando le radici dei nervi del midollo spinale. Un rallentamento del tempo di conduzione è presente tipicamente nel caso di disordini neurodegenerativi, perciò misurare parametri quali l'ampiezza del MEP e la sua latenza è utile nella valutazione, ad esempio, di pazienti con sclerosi multipla o con danni al midollo spinale.

È una conseguenza evidente dunque che l'ampiezza dei MEP non rifletta solamente l'integrità del tratto corticospinale, ma anche l'eccitabilità della corteccia motoria e delle radici nervose e la conduzione attraverso il percorso periferico nervoso verso i muscoli. Ecco perché pazienti con disfunzioni ad un qualsiasi livello lungo il percorso corticospinale, come i casi accennati sopra, possono mostrare dei MEP anormali, mentre la presenza di MEP nella norma suggerisce l'integrità del tratto piramidale. Essendo il MEP generato dalla TMS è naturale che esso sia in stretta relazione con l'intensità dell'impulso TMS stesso. Questa relazione si esprime tramite la cosiddetta curva di reclutamento (figura 6) o curva stimolo-risposta, una curva input-output che fornisce delle informazioni sul funzionamento dei neuroni che sono intrinsecamente meno eccitabili o spazialmente lontani dal centro di attivazione della TMS. Questa curva risulta di fondamentale importanza nello studio e nella caratterizzazione degli output efferenti della corticale, rendendo la TMS uno strumento prezioso nello studio in campo motorio. Ma non solo il MEP nel suo svolgimento è utile per l'analisi del sistema nervoso. Infatti quando, ad esempio, ad un soggetto

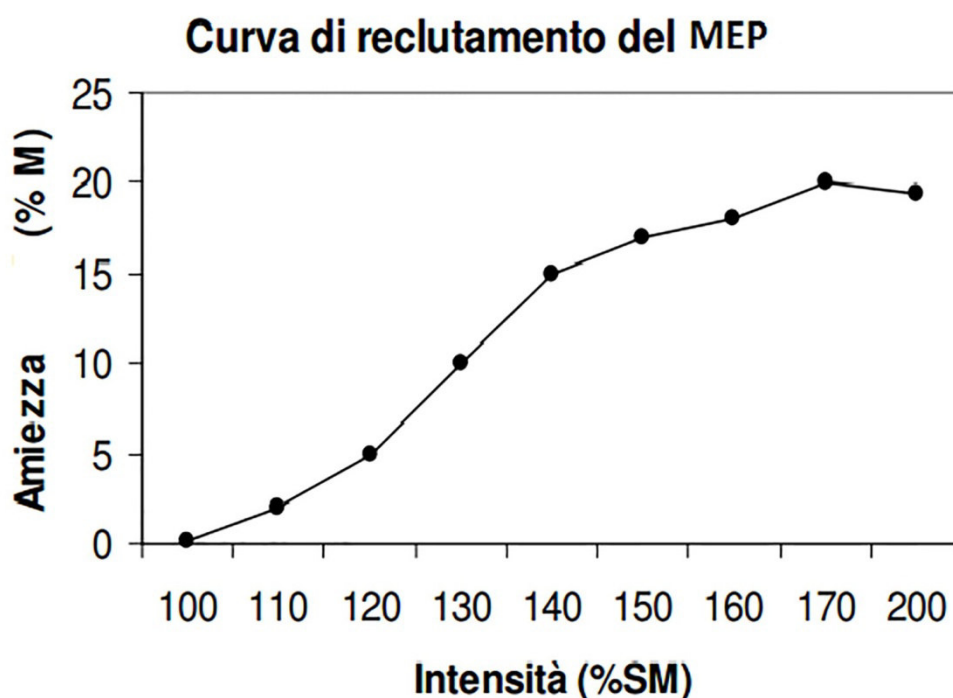
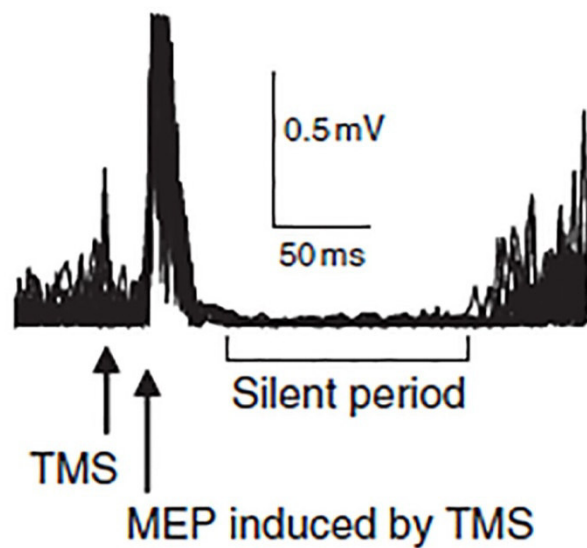


Figura 6: curva di reclutamento ottenuta dalle registrazioni effettuate dal muscolo abduktore breve del pollice. È evidente la stretta relazione tra l'intensità dell'impulso TMS e l'ampiezza del MEP ottenuto

viene richiesto di mantenere una contrazione muscolare di un determinato muscolo e viene inviato un singolo impulso TMS con un'intensità soprasoglia diretta alla rappresentazione corticale del muscolo in questione, l'attività elettromiografica (EMG) di quest'ultimo viene arrestata per poche centinaia di millisecondi in seguito al MEP. Questo periodo di soppressione dell'EMG viene definito "periodo silente" (figura 7), ed è spesso definito come il tempo che va dal termine del MEP al ripristino dell'attività elettromiografia volontaria. Si ipotizza che buona parte di questo periodo sia dovuta al meccanismo inibitorio corticale della corteccia motoria, mentre si suppone che meccanismi inibitori spinali contribuiscano solo per i primi 50-60 ms di questa soppressione. E' possibile, in ultima analisi, che gli elementi neuronali responsabili del periodo silente siano mediati da recettori di tipo GABA. Periodi silenti inusualmente brevi o prolungati sono stati osservati in pazienti con diversi disordini motori, come per esempio il morbo di Parkinson. Il periodo silente può essere quindi utile nell'utilizzo della TMS per la valutazione della patofisiologia e come guida terapeutica di molte sindromi. Tra queste occorre menzionare per importanza della tecnica nel monitoraggio e per grado di diffusione nella popolazione, l'ictus e la sclerosi laterale. Il ricercatore Classen (Classen et al., 1997) e i suoi collaboratori hanno analizzato mediante la TMS pazienti che, in seguito a un ictus acuto, mostravano emiparesi e una lunga durata del periodo silente, ma un normale tempo di conduzione motoria centrale (che sarà analizzata in seguito) e normali MEP in corrispondenza del lato affetto dalla patologia. Questi pazienti presentavano deboli accenni di movimento, incapacità di mantenere una forza costante e handicap nei movimenti individuali delle dita che somigliavano a una trascuratezza motoria. Il periodo silente diminuiva in concomitanza con i miglioramenti clinici. Questo studio dunque, suggerisce che tra i pazienti affetti da ictus emiparetico, esiste un sottogruppo i cui disordini motori sono causati da meccanismi inibitori esagerati nella corteccia motoria piuttosto che da un disordine diretto a livello corticospinale captabili solamente grazie alla TMS. Per quanto riguarda invece la sclerosi laterale amiotrofica, i pazienti presentano una breve durata del periodo silente dovuta al danneggiamento dell'inibizione intracorticale, che può essere reversibile grazie a farmaci antilutammatergici. Queste scoperte dunque forniscono la possibilità di analizzare più a fondo la patofisiologia di queste malattie. Tuttavia occorre sottolineare che lo



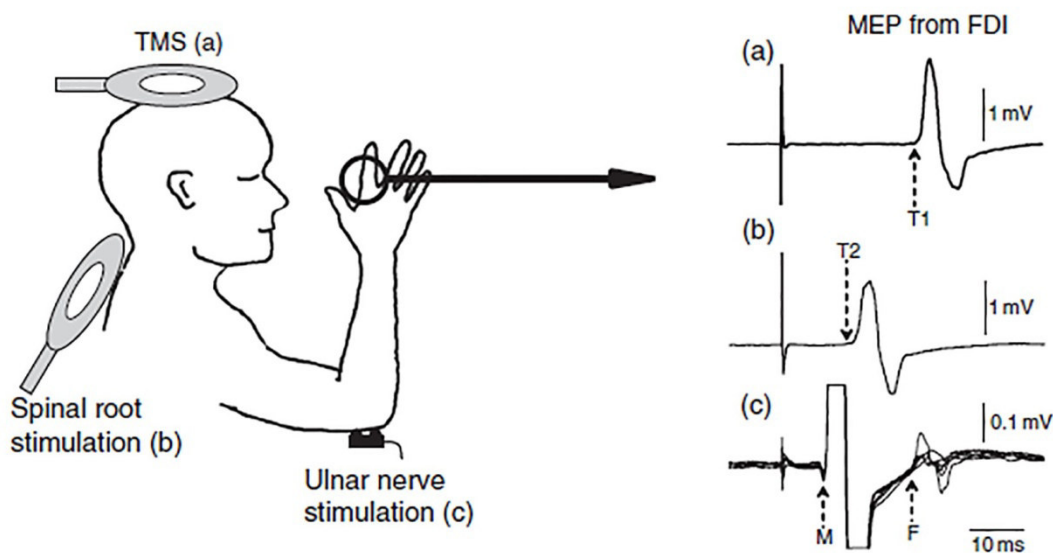
**Figura 7: periodo silente registrato tramite EEG**

studio dei MEP presenta alcune difficoltà. Innanzitutto è difficile definire il termine dei MEP con precisione, in particolare in pazienti con disfunzioni riguardanti il tratto corticospinale. Allo scopo di aggirare questa difficoltà gli studiosi hanno definito il periodo silente come il tempo di intervallo dell'invio dello stimolo al ritorno dell'attività volontaria. Inoltre la riduzione di ampiezza dei MEP è associata a una carenza di conduttività centrale motoria in diversi casi. Ad esempio, il MEP controlaterale subito dopo un ictus suggerisce una ripresa favorevole, mentre l'assenza di MEP suggerisce uno scarso risultato. Anche in individui sani la dimensione e la latenza dei MEP mostrano una grande variabilità interindividuale e intraindividuale e portano a un range piuttosto largo di valori considerati normali sulla base dei quali regolare anche la strumentazione TMS. I risultati pertanto sono più qualitativi che quantitativi.

## **II CMCT**

Come già anticipato, un ulteriore parametro che è fondamentale poter misurare, è il tempo di conduzione motoria centrale o CMCT, definito come la differente latenza tra i MEP indotti dalla stimolazione sulla

corteccia motoria e quelli suscitati dalla stimolazione spinale (radici motorie). Esso viene calcolato sottraendo la latenza del segmento periferico del percorso motorio (dalle radici spinali ai muscoli) da quella dell'intero percorso motorio (dalla corteccia motoria ai muscoli). Occorre tener conto nelle considerazioni successive che il CMCT calcolato per mezzo dei dati delle stimolazioni magnetiche include sia il tempo effettivo della conduzione centrale motoria, ma anche almeno un ritardo sinaptico a livello spinale e il tempo dalla radice prossimale al foro di uscita intervertebrale (figura 8). Anomalie del CMCT sono state riscontrate in presenza di vari disturbi neurologici. Questo parametro risulta quindi, anche comparato coi



**Figura 8:** rappresentazione schematica del calcolo del CMCT. a) MT indotto dalla TMS. b) MEP dopo la stimolazione della radice spinale cervicale. c) onda F che appare dopo la stimolazione del nervo ulnare. Il CMCT viene stimato dall'inizio della latenza di T1 meno l'inizio della latenza di T2. Utilizzando la latenza dell'onda F, il CMCT può essere stimato in maniera più precisa come  $T1 - (F+M-1)/2$ , dove F, T1 e T2 sono già stati descritti, e M è l'inizio della latenza dell'onda M data dalla stimolazione del nervo ulnare.

MEP, molto utile nella diagnosi di alcune patologie. Ad esempio, un prolungamento significativo del CMCT suggerisce una demielinizzazione della via motoria centrale, mentre dei MEP di bassa ampiezza con uno scarso ritardo o assenza di risposta suggerisce maggiormente una perdita di neuroni o assoni. Tuttavia è importante

ricordare che quando una bobina TMS viene posizionata sul dorso del collo o della colonna vertebrale, l'impulso magnetico stimola le radici dei nervi spinali ma non il tratto discendente spinale. Poiché l'osso è il maggior direttore della corrente elettrica indotta nel corpo a causa della sua bassissima conduttività, a livello dei fori dei nervi della spina dorsale il campo elettrico indotto e la sua derivata prima spaziale aumentano in modo consistente, mentre nel canale spinale sono molto bassi. Per questo vi è un'estrema difficoltà nello stimolare il midollo spinale per mezzo di una stimolazione magnetica e una mancanza di variazione di latenza tra i MEP ottenuti, anche quando viene mossa la bobina lungo l'asse rostrocaudale della spina dorsale. Nonostante questi impedimenti, come precedentemente sottolineato, la misurazione del CMCT attraverso TMS si è rivelata molto utile nell'analisi di patologie quali la sclerosi multipla e l'ictus. La sclerosi multipla infatti, così come la mielopatia spondilistica cervicale, è una patologia tipica che mostra tempi di conduzione lunghi con risposte diffuse e attenuate, mentre nei pazienti con la sclerosi laterale amiotrofica, i MEP sono di bassa ampiezza ma il CMCT è solo lievemente ritardato. Il CMCT è infine correlato con il grafo di deficit motori derivanti da danni provocati dall'ictus. Misurazioni del CMCT possono dunque essere utilizzate anche come segnali evidenti nel monitoraggio della progressione e della prognosi della malattia, anche se questa caratteristica non risulta specifica per ciascuna malattia in particolare.

### **La MT**

Infine, l'ultimo parametro da analizzare per quanto riguarda l'ambito motorio è la soglia motrice, o MT. La soglia motrice è definita come la più bassa intensità della TMS necessaria per suscitare un MEP, di almeno 50  $\mu V$  picco-picco, in un muscolo scelto della corteccia motoria in almeno il 50% di stimolazioni successive (ad esempio 5 su 10).

L'MT è in grado di fornire delle informazioni fondamentali riguardanti l'eccitabilità della rappresentazione centrale del muscolo scelto nella corteccia motoria e si crede che rifletta l'eccitabilità dei neuroni corticospinali così come quella dei neuroni motori nel midollo spinale, nelle giunzioni neuromuscolari e nei muscoli. Come nel caso dei due parametri citati in precedenza inoltre, le variazioni dell'MT sono state studiate in varie patologie e si è notato che essa cresce in condizioni neurologiche che colpiscono il tratto corticospinale, come per esempio la sclerosi multipla e l'ictus, così come lesioni cerebrali o al midollo

spinale. Un caso interessante è rappresentato dalla sclerosi amiotrofica laterale. I pazienti affetti da questa patologia infatti, presentano un abbassamento della soglia motrice rispetto ai pazienti sani, e un'eccitabilità invece superiore dell'area motrice della mano all'inizio della loro malattia, quando le funzioni della mano sono ancora normali. Quando la patologia progredisce e una diminuzione dei neuroni motori, nonché diverse altre manifestazioni, appaiono nei muscoli della mano, la soglia motrice generalmente aumenta suggerendo la perdita di neuroni motori superiori o dei nervi periferici coinvolti. Anche quando dunque i pazienti affetti dalla sclerosi amiotrofica laterale non mostrano dei segni corticobulbari a livello clinico, la TMS può individuare il coinvolgimento dei percorsi verso i muscoli, le cui mancanze vengono compensate dai nervi cranici (ecco il perché della soglia motrice e del ritardo nel tempo di conduzione motoria centrale, in concomitanza con il ridotto periodo silente), rendendo più facile il percorso diagnostico. L'unico aspetto a cui occorre prestare attenzione nell'analisi della MT è che anche varie tipologie di cura in base al loro meccanismo d'azione possono influenzarla inficiando i risultati ottenuti.

#### **b. TMS a singolo impulso in ambito clinico e sperimentale**

Oltre alle applicazioni, per lo più diagnostiche e di monitoraggio in ambito motorio, già descritte, la TMS a singolo impulso presenta interessanti applicazioni anche in ambito clinico e sperimentale. Tra queste è d'obbligo menzionare la riabilitazione motoria e lo studio degli effetti dei farmaci in ambito clinico, la mappatura delle aree corticali, l'analisi della plasticità cerebrale, gli studi sul linguaggio e sulla percezione visiva in ambito sperimentale. Per quanto riguarda il primo sottogruppo, la TMS è stata utilizzata per sondare il recupero delle funzioni fisiologiche e motorie successivamente ad un danno cerebrale, come ad esempio nel caso dell'ictus, e può essere ed è tutt'ora uno strumento utile nello sviluppo di strategie neuro riabilitative. Inoltre, poiché la TMS può essere utilizzata in modi diversi per misurare l'eccitabilità corticale e quest'ultima rappresenta un'interazione a livello di neurotrasmissione e circuiteria corticale, l'effetto dei farmaci e varie condizioni patologiche possono essere valutati attraverso misurazioni con la TMS. Queste misurazioni a loro volta possono essere utilizzate per sviluppare una relazione tra effetti fisiologici e la neurofarmacologia e possono potenzialmente essere d'aiuto nello sviluppo di trattamenti farmacologici altamente



individualizzati per patologie quali l'epilessia, la depressione e il morbo di Parkinson.

Per quanto riguarda l'ambito sperimentale invece, la stimolazione focale per mezzo di TMS può essere impiegata per mappare l'estensione della rappresentazione, sia motoria corticale e le sue funzioni, come anche quella di altre aree della corteccia. La TMS è stata infatti utilizzata ampiamente anche nella mappatura di altre aree diverse da quella motoria in relazione agli studi riguardanti la memoria, l'attenzione, il linguaggio, la percezione visiva e delle immagini. Un impulso TMS appropriatamente inviato sia nello spazio che nel tempo può infatti modificare temporaneamente la funzione corticale in una determinata area. Stabilendo un legame causale tra l'attività cerebrale e il comportamento, la TMS viene utilizzata per individuare quali parti di una rete nota sono necessarie per lo svolgimento di un compito comportamentale e, quindi, rende possibile integrare e perfezionare le conclusioni a cui si è sopraggiunti grazie agli studi di neuroimaging funzionale. Queste mappe possono essere ottenute in momenti diversi dallo stesso soggetto e valutate sotto diverse condizioni. Ciò è particolarmente utile nello studio delle trasformazioni funzionali dell'attività corticale associate alla plasticità cerebrale. Ad esempio, sono state dimostrate trasformazioni neuro plastiche nella rappresentazione della corteccia somatosensoriale durante l'apprendimento di un'abilità quale suonare un nuovo brano musicale al pianoforte. In uno studio è stato mostrato che la rappresentazione corticale si espande in concomitanza al miglioramento globale dell'abilità di suonare e ritorna di dimensioni normali una volta che l'abilità è stata appresa adeguatamente. Pertanto la TMS a singolo impulso permette di approfondire degli aspetti del cervello umano non ancora del tutto chiari. Infine, è importante notare che anche il tempo di stimolazione concorre all'ottenimento di un determinato risultato. Ad esempio, quando un impulso TMS è inviato per un preciso lasso di tempo al polo occipitale, la detezione di uno stimolo visivo che si è presentato può essere bloccata. Variando il periodo di tempo tra lo stimolo visivo e l'impulso TMS, la cronometria della percezione visiva dalla corteccia visiva primaria alle aree visive extra striate può essere verificata.

### 1.3.2 TMS a doppio impulso

Come già accennato, un secondo metodo di analisi per mezzo della TMS consiste nella combinazione di uno stimolo di condizionamento con l'invio di uno stimolo di test a varie intensità e con diversi intervalli tra gli stimoli, ma diretto alla stessa area corticale. In questo modo si possono ottenere, ad esempio, delle informazioni sulle interazioni cortico-corticali e misurazioni sull'inibizione o sull'agevolazione a breve e lungo termine. Questa tecnica viene definita stimolazione a "coppia di impulsi" (paired pulse) o ppTMS. Dal punto di vista più tecnico, uno stimolo di condizionamento sotto soglia viene seguito da uno stimolo di test sopra soglia a diversi intervalli di interstimolo (solitamente 1-20 ms), attraverso la stessa bobina TMS. Questi stimoli vanno ad interessare la corteccia motoria primaria, dando luogo a un'inibizione o ad una facilitazione variabili. Gli effetti del condizionamento della TMS sulla dimensione dei MEP di test infatti, dipendono dall'intensità dello stimolo e dall'intervallo di interstimolo. Più precisamente, quando un impulso di condizionamento è fissato al 60-80 % della soglia di riposo motoria, gli effetti di massima inibizione si ottengono con intervalli di interstimolo brevi, di circa 1-4 ms. Questa inibizione può giungere generalmente come massimo al 20-40% del MEP di test. Per intervalli invece di circa 7-20 ms, si possono osservare sul MEP di test degli effetti di facilitazione dell'impulso TMS con la stessa intensità sottosoglia. L'ordine di grandezza di questa facilitazione è piuttosto variabile da soggetto a soggetto e può inoltre variare anche in base alla dimensione dei MEP di test suscitati e alla contrazione del muscolo esaminato, una variabile critica per il controllo di questi studi. Pertanto per uno studio a coppia di impulsi è di fondamentale importanza che il paziente rimanga rilassato e che la dimensione dei MEP di test sia regolata durante le prove e al variare dei soggetti. È importante notare infine, che questi fenomeni di agevolazione e inibizione intracorticale sono molto simili per la muscolatura della mano, la parte inferiore del viso, gambe e muscoli prossimali delle braccia, ad indicare che questi meccanismi intracorticali sono analoghi per diverse rappresentazioni motorie. La ppTMS risulta dunque avere un esteso range di possibili zone d'influenza. Grazie alla sua versatilità dunque, la ppTMS ha trovato applicazione in ambito diagnostico, ad esempio nell'individuare lesioni nervose, in ambito clinico nella ricerca di una cura coi farmaci attivi o

per l'epilessia e diversi tipi di psicosi, infine in campo sperimentale come analisi corticale e non, come indagine sulla connettività, sulla relazione preparazione-esecuzione, come analisi di patologie e per indagare vari disturbi neurologici e psichiatrici.

#### **a. ppTMS in ambito diagnostico**

Da un punto di vista diagnostico, la ppTMS e le misure che con essa è possibile ottenere potrebbero essere d'aiuto nel localizzare il livello di una lesione all'interno del sistema nervoso, distinguendo ad esempio tra una demielinizzazione predominante o una lesione assonale nel tratto motorio, o addirittura riuscendo a predire un risultato motorio a livello funzionale. I procedimenti che vengono utilizzati durante questa tipologia di ricerche come per la TMS a singolo impulso, si basano su un'attenta analisi dei MEP, CMCT e MT e delle loro variazioni in casi di anomalie nervose. Come altri test neurofisiologici comunque, le anomalie rivelate dalla ppTMS non sono sempre specifiche della patologia. Non è ancora chiaro quindi se queste scoperte neurofisiologiche possano fornire degli indicatori predittivi comparati a quelli che possono essere ottenuti con un esame neurologico attento e longitudinale. Dunque in ambito diagnostico la ppTMS non è stata ancora pienamente sviluppata e i suoi risultati compresi.

#### **b. ppTMS in ambito clinico**

Per quanto riguarda l'ambito clinico invece, la ppTMS si è dimostrata estremamente utile nell'analisi dell'effetto, e nella ricerca di un'eventuale applicazione curativa, dei farmaci CNS-attivi sulla corteccia motoria umana e sul sistema nervoso umano. In questo contesto infatti, la ppTMS può essere utile nel selezionare la tipologia di cura migliore per un dato paziente accoppiando l'anomalia riscontrata in corrispondenza di un dato disordine con gli effetti di un diverso agente farmaceutico. Questo approccio così basato sulla neurofisiologia e sulla selezione della cura adeguata sarebbe certamente vantaggioso in caso, ad esempio, di epilessia o psicosi, anche se sono necessari ancora degli studi sistematici in quanto la procedura potrebbe risultare troppo complicata per essere utilizzata in ambito clinico.

#### **c. ppTMS in ambito sperimentale**

Come detto precedentemente, la ppTMS può essere applicata non solo a livello corticale, ma anche al cervelletto o a livello del foro occipitale,

così come a un nervo periferico o a un plesso di nervi, permettendo così ai ricercatori di poter esaminare il sistema motorio a diversi livelli del neuroasse, ma non solo quello. Con la TMS a coppia di impulsi infatti, è possibile esplorare la connettività funzionale di differenti aree corticali nel cervello umano. In questo caso però, i due impulsi vengono inviati a due regioni cerebrali differenti utilizzando due diverse bobine: lo stimolo di test e lo stimolo di condizionamento, con un intervallo di 4-30 *ms*. Ciò che viene misurato, come negli altri casi, è l'effetto dello stimolo di condizionamento sulla risposta allo stimolo di test e, in base all'intensità dello stimolo di condizionamento e all'intervallo di interstimolo, possono essere registrate sia un'inibizione sia un'agevolazione. Più l'impulso di TMS è forte, più a lungo perdura l'inibizione interemisferica. Poiché le variazioni nell'efficacia degli impulsi di condizionamento danno un'indicazione di come cambi nel tempo e in base al compito svolto l'eccitabilità della connessione, questo tipo di approccio può rivelare così la mutua interazione a livello funzionale tra differenti aree corticali, come anche il tempo di conduzione trans callosa. Ad esempio, la ppTMS è stata utilizzata per analizzare il tempo di interazione nella corteccia visiva. La percezione di fosfeni indotta attraverso il movimento della TMS dopo aver stimolato l'area motrice MT/V5, può essere inibita significativamente da un secondo impulso di TMS applicato alla corteccia visiva primaria (V1) se inviato 10-40 *ms* più tardi. Questa scoperta riflette la finestra temporale della retroproiezione da V5 a V1 e indica che queste proiezioni sono necessarie per la consapevolezza visiva del movimento. Si capisce dunque l'importanza della ppTMS nella comprensione di questo tipo di interazioni. Questo metodo di stimolazione inoltre, è stato anche applicato con successo, sempre in ambito sperimentale, nello studio del tempo intercorso nelle interazioni intra e inter emisferiche tra la preparazione e l'esecuzione di un'intenzione di movimento complesso. In ambito motorio, la possibilità di studiare le interazioni interemisferiche ha portato allo studio di percorsi interemisferici. Infatti l'utilizzo di ppTMS a bassa intensità con stimoli lontani circa 4-5 *ms* mentre il paziente tiene i muscoli della mano lievemente contratti ha portato ad indagare meglio le interazioni interemisferiche nel controllo motorio e in presenza di disordini del movimento patologici. Un caso fra tutti è quello del mioclono corticale, tipo di epilessia che ha origine nella corteccia cerebrale. Per mezzo della stimolazione con ppTMS infatti, si nota che i pazienti affetti da

questa patologia non presentano il tipo di interazioni prima citate, e questo indica che gli interneuroni inibitori trans callosi o corticali vengono influenzati dalla patologia. Anche nel caso di pazienti affetti da ictus è possibile che essi mostrino cambiamenti in queste influenze interemisferiche. Questo tipo di applicazioni rende dunque la ppTMS uno strumento utile nel chiarire i meccanismi delle interazioni patologiche interemisferiche e intracorticali in disturbi neurologici e psichiatrici.

Un'ultima applicazione della TMS a impulsi doppi è infatti lo studio della patofisiologia di vari disturbi neurologici, nonché psichiatrici. Questi studi hanno dato diversi risultati interessanti, sebbene non ancora abbastanza specifici. Ad esempio, possono essere riscontrate le stesse anomalie sia per la distonia che per il morbo di Parkinson. Inoltre, i disordini senza chiare patologie cortico motorie, come ad esempio la schizofrenia, la depressione, i disturbi ossessivo-compulsivi sono associati a cambiamenti dell'attività neurale non ancora ben chiari. Ciononostante, studi longitudinali sulle risposte della ppTMS possono essere significativi per la prognosi di questo tipo di disturbi, e per questo devono essere perseguiti.

#### **d. Uso concomitante della ppTMS e TMS a singolo impulso**

Un particolare utilizzo di questa tecnica, che ancora non è del tutto sviluppato, è rappresentato dalla sua applicazione in concomitanza a un singolo impulso soprasoglia di TMS alla corteccia motoria per sopprimere l'attività miografica in corso in piccoli muscoli della mano omolaterale. Inviando questo impulso mentre il paziente tiene contratti i muscoli della mano omolaterale, si può registrare un periodo silente di circa 30 ms che inizia 10-15 ms dopo il minimo tempo di conduzione corticospinale del muscolo della mano che viene registrato. Si pensa che questa inibizione sia mediata per mezzo di vie trans callose e scaturisca a livello della corteccia motoria. Si è notato inoltre che in pazienti con lesioni del corpo calloso questa inibizione trans callosa è ritardata o assente. Un primo ambito in cui è stata applicata questa particolare tecnica, ragione per cui ha acquistato una notevole importanza, è nelle ricerche sulla sclerosi multipla. In questa patologia il coinvolgimento del corpo calloso può essere clinicamente impercettibile, ma si pensa che questo possa essere associato agli scarsi valori prognostici riguardanti le funzioni cognitive. Questa applicazione particolare della ppTMS dunque, potrebbe aggiungere

valide informazioni funzionali alle visioni strutturali, molto dettagliate, che vengono ottenute dagli studi con MRI nei pazienti con la sclerosi multipla, nonché potrebbe essere particolarmente utile nelle indagini sulle interazioni emisferiche.

### 1.3.3 rTMS

Una terza applicazione della TMS, nonché una di quelle che ancora ha più margine di sviluppo, è detta rTMS. La rTMS è definita come l'applicazione di un treno di impulsi della stessa intensità a una singola area cerebrale ad una data frequenza e intensità. In generale, più sono alte la frequenza e l'intensità di stimolazione, più imponente è il disturbo delle funzioni corticali durante l'applicazione del treno di impulsi. Tuttavia, di seguito a questi effetti immediati, un treno di impulsi rTMS può indurre anche una prolungata modulazione dell'eccitabilità corticale che può perdurare ben oltre la durata del treno stesso, e in questo consiste la sua particolarità. L'effetto di modulazione può spaziare dall'inibizione all'agevolazione in base ai parametri di stimolazione utilizzati, così come accadeva per la ppTMS. Le frequenze più basse, ad esempio 1 *Hz*, applicate alla corteccia motoria possono reprimerne l'eccitabilità, mentre treni di stimolazione a più alte frequenze, circa 20 *Hz*, portano ad un aumento dell'eccitabilità corticale. Questi effetti variano a seconda dell'individuo considerato e della forma dei treni, tuttavia in generale le basse frequenze (intorno a 1 *Hz*) producono effetti molto duraturi e robusti e possono essere quindi applicati alla corteccia motoria e ad altre regioni corticali per studiare le relazioni comportamentali del cervello. Se si vuole ottenere un effetto ancora più persistente e importante nella neuro modulazione dell'area scelta, solitamente si combinano varie frequenze di stimolazione. Occorre sottolineare per quanto riguarda i limiti sopra citati, che essi non sono del tutto arbitrari. È infatti noto, ad esempio, che le basse frequenze intorno ad 1 *Hz* possano essere correlate alla depressione o al potenziamento a lungo termine che segue la stimolazione tetanica dei nervi: esistono prove che dimostrano che la rTMS alle alte e basse frequenze individuate prima producono effetti relativamente distinti sia su misure dirette dell'attività

cerebrale, sia nel comportamento. Utilizzando la rTMS quindi, la frequenza sembra essere il parametro chiave che determina la direzione degli effetti, anche se altre variabili dovrebbero essere tenute in considerazione mentre si pianifica un esperimento con questo metodo. Ad esempio, occorre prestare attenzione alla durata del treno di impulsi, all'intervallo tra due treni, al numero totale di treni e di stimoli in una durata sessione o su una determinata area. Rispettando i suddetti parametri, si vengono a definire due modi principali di effettuare la rTMS: online e offline.

#### **a. Tipologie di stimolazione rTMS**

Durante l'approccio "online", i soggetti svolgono il compito assegnato e, in un momento specifico prima o durante il compito, viene inviato un treno di impulsi a una particolare area del cervello. Solitamente, in questo modello viene utilizzata un'alta frequenza e l'effetto complessivo ottenuto può essere o un miglioramento o una menomazione della performance. L'altro approccio molto diffuso nell'utilizzo della rTMS invece, è quello di stimolare per qualche minuto il sito di interesse prima di iniziare il test. Questa tecnica viene definita "offline". Infatti come già accennato in precedenza, una caratteristica fondamentale della rTMS è quella di sembrare capace di modificare l'attività all'interno di un'area del cervello anche più a lungo della durata effettiva dell'applicazione degli impulsi. Con questi effetti a lungo termine, la tecnica risulta uno strumento importante nell'incentivare cambiamenti di tipo plastico nella popolazione neurologica. La stimolazione offline a bassa frequenza, può essere utilizzata allo scopo di indurre una soppressione a lungo termine dell'attività neurale. Questo approccio ha il vantaggio di non richiedere l'utilizzo della rTMS al momento dello svolgimento del test, rimuovendo così molti degli effetti concomitanti non specifici presenti nella rTMS "online", come ad esempio comportamenti non specifici ed effetti sull'attenzione. L'aspetto che ancora non è chiaro di questa stimolazione offline, sono i meccanismi che regolano gli effetti di modulazione. Un'ipotesi è stata fatta proponendo come soluzione i meccanismi di soppressione o potenziamento a lungo termine delle sinapsi corticali, o altri meccanismi strettamente collegati ad essi, in modo da giustificare i differenti effetti ottenuti a basse e ad alte frequenze. Alcuni studi sugli animali suggeriscono inoltre che la modulazione dei neurotrasmettitori e l'induzione di gene possano

anch'essi essere considerati come fattori contribuenti. Infine, gli effetti della rete neuronale sia all'interno dell'emisfero stimolato, sia attraverso la rete bi emisferica cortico-subcorticale potrebbero giocare un ruolo critico.

Recentemente è stato inoltre sviluppato un altro protocollo di rTMS, denominato "theta burst", in cui rapide scariche di rTMS a 50 *Hz* vengono ripetute a una velocità nel range theta (5*Hz*) sottoforma di treno di impulsi continuo o intermittente. Gli effetti eccitatori e inibitori di questo tipo di stimolazione possono essere direzionati sia dall'invio continuo, sia da quello intermittente di queste scariche theta nel tempo. La stimolazione theta burst continua, come nel caso della rTMS a bassa frequenza, può indurre effetti neurali inibitori che durano più a lungo della durata della stimolazione in sé.

Una volta descritte le differenti modalità di applicazione della rTMS, le applicazioni che è necessario presentare sono diverse, ma tutte appartenenti all'ambito sperimentale.

#### **b. Applicazioni della rTMS in ambito sperimentale**

Differentemente dalla TMS a singolo impulso e dalla ppTMS che trovano applicazione anche in campo diagnostico e clinico, la rTMS è per ora circoscritta solamente all'ambito sperimentale. A questo proposito sono stati effettuati esperimenti che riguardano ambiti sensoriali quali la tattilità, il riconoscimento di oggetti, così come l'ambito cognitivo e linguistico. Inoltre, applicata in concomitanza con altre tecniche come il neuroimaging, la rTMS ha portato contributi notevoli in campo visivo, tattile e di indagine della corteccia motoria e della memoria verbale.

Per quanto riguarda l'ambito tattile, se si invia ad esempio un treno rTMS online a 5 *Hz* diretto alla rappresentazione corticale del dito indice destro nella corteccia somatosensoriale primaria, si può indurre una diminuzione della soglia di discriminazione tattile nel dito indice stesso che è associata a un ingrandimento della rappresentazione del dito indice nella corteccia somatosensoriale primaria, come si può misurare attraverso la fMRI (risonanza magnetica funzionale). In questo modo è possibile analizzare e comprendere il funzionamento di quest'area della corteccia in modo piuttosto approfondito e ricercarne eventuali applicazioni cliniche e diagnostiche.

Lo stesso si può fare nel caso del riconoscimento degli oggetti. Il gruppo di ricerca capeggiato da Harris (Harris IM et al.2008) infatti, ha



applicato un breve treno di impulsi online a 12 *Hz* al lobo parietale inferiore (una regione che appartiene al fascio dorsale visivo) mentre i soggetti stavano svolgendo una prova di identificazione di oggetti oppure una prova di riconoscimento dell'orientazione di un oggetto. Questo protocollo induceva un miglioramento del riconoscimento degli oggetti, ma allo stesso tempo esso provocava un indebolimento sul giudizio di orientamento, mostrando di conseguenza che il lobo parietale svolge un ruolo critico in ambo i processi di riconoscimento delle caratteristiche spaziali di un oggetto e del suo orientamento nello spazio. A questo proposito, è stato osservato che la rTMS ha delle ulteriori influenze in ambito cognitivo. Ad esempio inibendo l'attività della corteccia parietale posteriore con 20 minuti di rTMS offline a 1 *Hz*, si compromette l'orientamento spaziale di stimoli visivi e uditivi specifici durante il tempo di reazione di un compito assegnato alla fine della stimolazione.

Come anticipato inoltre, la rTMS offline viene utilizzata anche in studi riguardanti il linguaggio. Inviando degli impulsi rTMS ad alta frequenza, dell'ordine di 25 *Hz*, centrati sopra la corteccia frontale infero laterale, si può indurre un blocco linguistico in un soggetto istruito mentre sta contando ad alta voce o addirittura è possibile indurre degli errori simili alla parafasia in un soggetto al quale è stato richiesto di nominare parole con una determinata iniziale. La rTMS perciò, può dar prova di essere un metodo non invasivo per determinare l'emisfero dominante di un individuo in ambito linguistico. Si sta dimostrando in esperimenti ancora in corso che la rTMS può avere inoltre effetti benefici nella riabilitazione delle funzioni linguistiche in pazienti con afasia dovuta a danni provocati dall'ictus, tuttavia ancora non esistono precise applicazioni cliniche di questo tipo di stimolazione.

Le applicazioni della rTMS sono così numerose anche perché è possibile utilizzare la tecnica in concomitanza sia ad un altro tipo di TMS, sia a tecniche differenti volte a compensare o migliorare la stimolazione a treno di impulsi. Così come per la ppTMS infatti, è possibile combinare la rTMS offline su un'area collegata a una determinata rete con un singolo impulso di rTMS su un'area differente. Così facendo si riesce ad analizzare la connettività funzionale all'interno di una rete interconnessa complessa. Un caso di fondamentale importanza che riguarda questo tipo di stimolazione, è quello della corteccia visiva. Preparando la corteccia parietale

posteriore con 20 minuti di rTMS a 1Hz, si inibiscono le influenze spaziali incrociate sull'eccitabilità della corticale visiva, così come è stato stimato attraverso l'induzione di fosfeni via impulso TMS valutato dopo il termine della stimolazione rTMS.

### **c. Utilizzo della rTMS in concomitanza con altre tecniche**

Oltre alla TMS a singolo impulso la rTMS può essere combinata anche con altre tecniche per la misurazione delle funzioni cerebrali come per esempio l'EEG, la tomografia a emissione positronica (PET), fMRI, e l'imaging ottico. La combinazione della TMS con queste tecniche può essere utile, come accennato, per stimare la connettività corticale e le interazioni tra le diverse aree cerebrali. Ad esempio, inviando un impulso rTMS ai campi ottici frontali si è dimostrato che non solo avviene la stimolazione dell'area sottostante la bobina, ma sono state registrate anche a livello remoto delle risposte nelle corteccie parietali e visiva. In più, anche se la TMS non può raggiungere direttamente le strutture subcorticali, uno studio recente ha mostrato che l'attività nel talamo può essere modulata dalla stimolazione della corteccia parietale. Questa attivazione del talamo attraverso l'impulso di rTMS diretto alla corteccia parietale, produce anche un'inibizione della corteccia parietale contro laterale e può essere alla base di una successiva ipersensibilità in risposta a stimoli omolaterali. Tuttavia la tecnica che abbinata alla rTMS dà maggiori possibilità in campo sperimentale e di analisi è il neuroimaging. Numerosi studi infatti hanno usato la TMS per stabilire il valore dei dati ottenuti attraverso le tecniche di neuroimaging in ambito visivo, tattile e di memoria verbale. Un caso particolarmente interessante infatti, è stato l'utilizzo della rTMS per indagare la funzione della corteccia visiva occipitale nei soggetti ciechi. Usando tecniche di neuroimaging funzionale, diversi gruppi di ricerca hanno dimostrato che la corteccia visiva occipitale è attiva mentre i soggetti con cecità quasi totale leggono il Braille. Più nello specifico, è stato dimostrato che un'interruzione reversibile effettuata sulla corteccia occipitale per mezzo della rTMS interrompe la prestazione di lettura del Braille in lettori con cecità quasi totale, ma non il controllo nella lettura dei pazienti vedenti. Pertanto si dimostra che esiste una relazione causale tra l'attivazione della corteccia occipitale e la necessità di utilizzo di quest'area per lo svolgimento di questa attività.

La rTMS quindi può aiutare a comprendere i meccanismi fisiologici visivi al fine di sfruttarli in ambito clinico. Altri studi inoltre hanno utilizzato la TMS in concomitanza con i dati ottenuti attraverso il neuroimaging funzionale per stabilire il ruolo della corteccia occipitale in altre forme di processi tattili, come per esempio il riconoscimento della forma di oggetti a livello tattile, e anche le capacità di memoria verbale nei ciechi. Per queste applicazioni, le informazioni riguardanti l'effettivo sito di stimolazione, individuabile con il neuroimaging, è di estrema importanza. In studi sulla corteccia motoria per esempio il punto di stimolazione può essere identificato e ragionevolmente verificato, dato che la stimolazione di quella determinata area suscita una misura chiara e oggettiva come un MEP, di cui si è già parlato diffusamente. Per altre aree corticali invece, in cui queste misurazioni non sono così facilmente ottenibili, l'utilizzo di punti di riferimento può non essere sufficientemente affidabile per l'identificazione del luogo di stimolazione, specialmente se si considera la variabilità in morfologia e dimensioni delle aree cerebrali da soggetto a soggetto. Per questa ragione, in aggiunta al neuroimaging si utilizzano i cosiddetti frameless stereostatic systems, che possono fornire la risoluzione anatomica precisa richiesta.

#### **1.3.4 TMS a tripla stimolazione**

Per concludere la descrizione delle metodologie di applicazione della TMS, è necessario menzionare una quarta tipologia di stimolazione, che si è affacciata da poco nell'orizzonte dello studio cerebrale: la tecnica a tripla stimolazione. Magistris e il suo team, hanno provato a sviluppare questa tecnica, che fornisce una quantità di misure elettrofisiologiche sulle carenze nella conduzione motoria centrale. Stimoli periferici applicati al plesso brachiale e al nervo mediano a livello del polso, inducono un potenziale del nervo che viaggia per il midollo spinale, e si scontrano con la scarica corticospinale discendente prodotta dalla de sincronizzazione dei MEP causata dalle scariche multiple suscitate dalla TMS. Nonostante non siano ancora molte le sue applicazioni, la tecnica di stimolazione tripla fornisce nuovi punti di vista sulla conduzione nel tratto corticospinale di individui in salute e , quando applicata sui pazienti con disfunzioni corticospinali, è dalle 2 alle 75 volte più sensibile rispetto ai MEP convenzionali. Tuttavia questo metodo è tecnicamente molto impegnativo e sono necessari ulteriori studi per valutare la sua efficacia in campo diagnostico, analisi

della gravità, monitoraggio dei progressi clinici e degli effetti del trattamento.

## **1.4 APPLICAZIONI IN VIA DI SVILUPPO e LIMITI DELLA TECNICA**

La TMS nella sua versatilità, può essere considerata un valido strumento in diversi ambiti. Come si è visto, molte applicazioni già in uso ad oggi interessano soprattutto l'ambito sperimentale. Tuttavia, un interesse considerevole è sorto in ambito clinico per quanto riguarda la TMS come forma di terapia nella cura di determinati disordini neurologici e condizioni psichiatriche, ma anche come supporto pre – operatorio.

### **1.4.1 TMS e disturbi neurologici**

Alcuni disordini neurologici possono coinvolgere o essere causati dall'indebolimento dell'eccitabilità corticale o interazioni alterate tra le strutture corticali e sub corticali. Queste particolarità possono essere individuate, come già discusso, grazie alla TMS. Il suo potenziale terapeutico si basa sul fatto che la rTMS può modulare l'eccitabilità corticale molto più a lungo dell'effettivo periodo di stimolazione. Alcuni studi hanno dimostrato a questo proposito che uno stimolo rTMS inviato all'area motoria corticale può aumentare il tempo di reazione in determinati compiti di coordinazione motoria e migliorare le funzioni motorie nei pazienti affetti da morbo di Parkinson. Pascual-Leone e i suoi collaboratori (Pascual-Leone et al, 2001) infatti hanno osservato che in pazienti affetti da questa patologia, se si invia un impulso rTMS ad alta frequenza (5 Hz) ma al di sotto della soglia motrice diretto alla corteccia motoria, viene migliorato il funzionamento della mano contro laterale. Ci sono due basi logiche per ora seguite per gli esperimenti con questo metodo sul morbo di Parkinson: con il primo si incrementa l'eccitabilità corticale della via talamo-corticale che si pensa presenti delle carenze in questa patologia; con il secondo, si modifica il metabolismo delle catecolamine a livello subcorticale attraverso la stimolazione corticale. Questi deboli benefici sono stati riprodotti da altri gruppi, e recentemente è stato mostrato che

la rTMS inviata alla corteccia prefrontale può incrementare la dopamina nei nuclei caudati. In ogni caso, altri studi attenti e sistematici non hanno invece mostrato nessun effetto favorevole. Questi effetti contraddittori pertanto hanno posto l'attenzione sulla difficoltà di fornire un effetto terapeutico clinico, sulla variabilità degli effetti della TMS al variare degli individui e sull'importanza di non basarsi su un cambiamento intenso e sintomatico in pochi pazienti per affermare l'applicabilità della tecnica.

Lo stesso ragionamento vale per un altro disturbo neurologico la distonia focale della mano o "crampo dello scrittore". Se si applica una rTMS a bassa frequenza (1 *Hz*) alla corteccia motoria, diminuendo così l'eccitabilità corticale, è stato infatti dimostrato un miglioramento nei sintomi della patologia. Nello specifico, si è osservato in questo caso un miglioramento dell'inibizione intracorticale carente di 3 ore di durata, dopo un'applicazione di rTMS per 30 minuti. Tuttavia anche in questo frangente non tutti gli studi sono riusciti a riprodurre queste scoperte, per cui i risultati rimangono preliminari ed è necessario che si svolgano altri studi con attenzione, anche perché per stabilire delle indicazioni terapeutiche per la rTMS risulta necessaria l'analisi di un elevato numero di pazienti. Infine, un altro disturbo neurologico a cui si è applicata la rTMS è il fenomeno dei tic. Anche in questo caso, sono stati registrati dei miglioramenti non sempre confermati.

#### **1.4.2 TMS e emicrania**

La rTMS presenta, oltre a quelle già citate, potenziali applicazioni cliniche non ancora vagliate. Applicando un impulso singolo di TMS sul lobo occipitale infatti, si possono suscitare fosfeni in alcuni individui. In modo analogo alla soglia motoria, si può così individuare una "soglia dei fosfeni" e si può utilizzare per studiare la corteccia occipitale e il percorso visivo. Questo fenomeno è stato studiato in pazienti con emicrania sia con, sia senza aura visiva. La soglia dei fosfeni si abbassa in modo significativo in pazienti con l'emicrania, manifestando una maggiore eccitabilità della corteccia visiva rispetto a individui controllati anche in periodi asintomatici. È stato suggerito dunque che la soglia dei fosfeni possa essere utile nel monitoraggio dell'efficacia di cure anti-emicrania. Come negli altri casi, sono necessari ancora altri studi per valutare se questo metodo possa avere qualcosa da aggiungere al follow-up clinico e alle stime, anche se appare come uno strumento molto utile nello studio di questa patologia.

### **1.4.3 TMS e disturbi depressivi**

Anche se gli effetti inibitori e facilitatori della rTMS furono documentati per la prima volta in studi sull'eccitabilità corticospinale, che interessa gli esempi citati fino ad ora, come si è visto è possibile applicare la tecnica anche ad altre aree non motorie esercitando potenziali effetti modulatori terapeutici simili. Gli effetti della rTMS possono essere indotti in altre aree associate con effetti misurabili sul comportamento, come per esempio la visuale, la prefrontale, la corteccia parietale, così come il cervelletto. Sicuramente, una delle applicazioni di questo genere ancora in via di sviluppo è quella riguardante la cura di disturbi depressivi. Questo percorso ad oggi mostra un effetto benefico nel 40% dei pazienti tra quelli affetti da disturbi farmaco-resistivi depressivi (MDD). I dati acquisiti con il neuroimaging hanno dimostrato che pazienti con MDD manifestano un decremento dei livelli di attività nella corteccia prefrontale dorso laterale (DLPFC). La stimolazione di questo bersaglio corticale per mezzo della rTMS a 20 Hz ha prodotto una diminuzione significativa nei sintomi della depressione. Curiosamente, degli impulsi rTMS inviati a bassa frequenza nella DLPFC destra hanno anch'essi degli effetti antidepressivi. Ciò suggerisce che stabilire un equilibrio nelle funzioni del lobo frontale può avere degli effetti benefici per quanto riguarda questo tipo di disturbo. Alcuni studiosi hanno ipotizzato che i pazienti con un metabolismo cerebrale diminuito potrebbero meglio rispondere alle alte frequenze, mentre quelli con un ipermetabolismo potrebbero rispondere meglio alla stimolazione a bassa frequenza, il che è in linea con gli effetti dipendenti dalla frequenza della rTMS sull'eccitabilità della corteccia motoria. Gli studi in corso stanno analizzando i parametri di stimolazione, come ad esempio il punto esatto di stimolazione, l'intensità, la durata del treno d'impulsi e il numero degli stessi, nella speranza di stabilire una terapia che possa andare ad aggiungersi, se non a sostituire, la terapia elettroconvulsiva.

### **1.4.4 TMS in ambito operatorio**

In ambito operatorio invece, la TMS può essere anche utilizzata nella valutazione preoperatoria di specifiche aree cerebrali e per il monitoraggio intraoperatorio delle funzioni corticospinali nel tratto motorio, allo scopo di ottimizzare le procedure chirurgiche (figura 9).



**Figura 9: dispositivo per la TMS utilizzato in sala operatoria**

Durante il planning preoperatorio, è necessario qualche volta, al fine di minimizzare il rischio di deficit post operatori, identificare l'emisfero linguistico dominante, localizzare l'area del linguaggio o l'area motoria che potrebbe essersi spostata a causa della compressione dovuta a lesioni intracraniche o intracerebrali. L'imaging funzionale (MRI) potrebbe essere utile in questo caso. Tuttavia, l'imaging può solamente fornire delle immagini delle aree cerebrali associate a un determinato comportamento, non riuscendo però a stabilire una relazione causale tra l'attività cerebrale e il comportamento. Allo scopo di trovare un compromesso tra associazione e causalità è necessario interrompere l'attività e indagarne gli effetti sul comportamento. La MRI funzionale non può dire al neurochirurgo che andando a ledere una data regione cerebrale, se questa mostra attivazione durante un compito o meno, causerà un deficit post chirurgico. La combinazione tra la MRI e la TMS può fornire questa informazione. Se si utilizza la rTMS ad alta frequenza sull'emisfero dominante, ma non su quello non dominante, si può indurre come detto un arresto linguistico e localizzare la corteccia relazionata con il linguaggio. In più, è stato riportato anche un metodo meno invasivo per identificare l'emisfero dominante con un singolo

impulso di TMS misurando l'aumento di eccitabilità nella corteccia motoria dell'emisfero dominante durante lo svolgimento di un compito linguistico. La correlazione di questi risultati con la TMS con i risultati del Wada test è alta, ma non ancora soddisfacente per una valutazione prechirurgica. Sono necessarie delle prove cliniche che leghino i risultati della TMS con le conclusioni interoperatorie e postoperatorie per stabilire l'utilità delle analisi prechirurgiche sull'emisfero dominante per il linguaggio con la TMS. Il monitoraggio intraoperatorio delle funzioni del tratto motorio durante un intervento chirurgico spinale o cerebrale è importante anche per evitare la rara ma devastante complicazione neurologica della lesione al midollo osseo. Monitorare l'integrità del percorso motorio centrale durante l'intervento è dunque un'altra applicazione interessante. Le registrazioni dei potenziali somatosensoriali suscitati non sono completamente soddisfacenti di per sé, poiché danni al midollo spinale anteriore e laterale possono provocare paralisi senza coinvolgere la colonna posteriore e quindi senza cambiamenti nei potenziali somatosensoriali. Questi falsi negativi sono stati riscontrati, il che evidenzia l'importanza del monitoraggio sia del percorso discendente che di quello afferente. Anche se la registrazione intraoperatoria dei MEP può fallire con l'inalazione di anestetici, lo sviluppo di anestetici intravenosi hanno migliorato il loro monitoraggio intraoperatorio. Gli anestetici intravenosi come per esempio il propofol, sembrano infatti sopprimere le onde indirette a livello corticale, ma una stimolazione ripetuta ad alta frequenza può superare questo effetto. Inalare anestetici sembra avere un ulteriore effetto soppressivo sulle onde dirette e non è adatto per il monitoraggio intraoperatorio. In ogni caso durante le procedure chirurgiche nei pressi della corteccia motoria, la TMS non offre ancora veri vantaggi al di sopra della stimolazione diretta, che potrebbe essere più facile da implementare nella sala operatoria. Comunque, per interventi chirurgici sulla spina dorsale o sul tronco encefalico o per interventi con l'anestesia spinale, la TMS può essere vantaggiosa perché è meno dolorosa e può essere più focalizzata rispetto alla stimolazione elettrica transcranica.

#### **1.4.5 Limiti della TMS**

La TMS dunque può essere utilizzata per modificare l'eccitabilità intracorticale e attivare strutture quali aree corticali, subcorticali, e spinali attraverso specifiche connessioni. Tuttavia, ci sono questioni in



sospeso per quanto riguarda gli effetti cellulari specifici della TMS, pertanto sono necessari ulteriori studi sugli animali al fine di chiarire il preciso meccanismo di funzionamento della TMS. Inoltre, poiché l'estensione o la dispersione della corrente indotta può essere variabile e impossibile da stimare senza stimolazioni in vivo e studi con registrazioni, è impossibile determinare in maniera precisa quali neuroni corticali o quanta dell'area corticale viene influenzata dall'impulso TMS. Anche se fosse possibile determinare quali neuroni vengono interessati con un certo impulso TMS, l'effetto della TMS su questi neuroni potrebbe essere eccitatorio, inibitorio o dipendente dalle condizioni. Un altro limite della TMS è che possono essere stimulate solamente le strutture di superficie del cervello. Anche se alcune regioni subcorticali possono essere influenzate utilizzando delle intensità maggiori o tipologie speciali di bobine, specialmente in soggetti o animali con teste piccole, non è possibile indirizzare l'impulso in maniera specifica verso le regioni subcorticali senza coinvolgere le zone corticali poiché la forza del campo magnetico variabile nel tempo segue una legge che va all'inverso del quadrato. Potrebbe essere possibile influenzare le strutture subcorticali a livello transinaptico stimolando le aree connesse corticali. In ogni caso, questi effetti indiretti rendono comunque difficoltoso determinare quali aree cerebrali vengono coinvolte causalmente in certi comportamenti o in certe funzioni. Infine, lo scatto rumoroso associato all'alta corrente che fluisce attraverso la bobina metallica, e la sensazione allo scalpo così come la contrazione muscolare dei muscoli della testa e del collo, richiedono dei controlli sulle condizioni molto accurati prima di includere la tecnica in una qualsiasi sperimentazione, allo scopo di eliminare ogni effetto non desiderato della TMS.

Per concludere, la TMS, introdotta circa 30 anni fa, sta diventando rapidamente uno strumento essenziale disponibile agli neuro scienziati per indagare le funzioni cerebrali e per i clinici per trattare le disfunzioni del cervello. Attraverso l'utilizzo della TMS per determinare se un'area del cervello è responsabile di determinate funzioni, essa completa bene le limitazioni associate con le tecniche di correlazione, come per esempio ERPs e fMRI. Può inoltre essere in grado di fornire nuove visioni per quanto riguarda le operazioni cerebrali. Il suo utilizzo che tuttora sta aumentando in modo

esponenziale da sola o in concomitanza di altre tecniche, permetterà una comprensione più profonda e completa della mente umana.

## **CAP2: tDCS**

La Stimolazione transcranica con Correnti Dirette (transcranial Direct Current Stimulation o tDCS) è una metodica di stimolazione cerebrale non invasiva capace di indurre cambiamenti funzionali nella corteccia cerebrale. La tDCS consiste essenzialmente nell'applicazione sullo scalpo di elettrodi eroganti una corrente continua di bassa intensità in grado di attraversare lo scalpo e influenzare le funzioni neuronali, trovando applicazione in numerosi ambiti clinici, diagnostici e di ricerca.

Se lo studio del cervello ha sempre suscitato grande fascino negli scienziati fin dall'antichità, gli effetti della corrente su di esso sono stati oggetti di un immenso interesse, scientifico e non, dal momento della sua scoperta in diverse parti del mondo. Gli effetti di un'incontrollata stimolazione del cervello infatti, sono stati riportati fin dal passato. Scribonius Largus (il fisico dell'imperatore romano Claudio), descrisse come piazzando una torpedine viva sul capo per inviare una forte corrente elettrica, si potesse alleviare l'emicrania. Galeno di Pergamo, uno dei più grandi medici degli antichi, e Plinio il vecchio descrissero risultati simili. Nel XI secolo, Ibn-Sidah, un fisico musulmano, suggerì di utilizzare un pesce gatto elettrico per il trattamento dell'epilessia. I metodi di stimolazione transcranica hanno dunque una lunga tradizione. Già intorno al 1800, quando Volta inventò la sua pila elettrica, i ricercatori cominciarono ad studiare le applicazioni della corrente diretta in una varietà di disordini neurologici. Studiosi come Walsh (1773), Galvani (1791, 1797) e Volta stesso (1792) stabilirono che la stimolazione elettrica di varia durata potesse suscitare diversi effetti fisiologici. In casi riportati negli scritti dell'epoca, ma non ben documentati senza gli standard moderni, si affermò che i pazienti affetti da ictus cronico potessero trarre beneficio dall'applicazione diretta di corrente (Hellwag e Jacobi, 1802). Il primo resoconto

sistematico delle applicazioni cliniche della corrente galvanica è datato in questo periodo, quando Giovanni Aldini (figura 10), il nipote di Galvani, e alcuni altri ricercatori utilizzarono la stimolazione transcranica come tecnica per curare la depressione. In breve tempo, nel XIX secolo, seguirono numerosi studi. Molti altri ricercatori utilizzarono nello stesso periodo la corrente galvanica per il trattamento di disordini mentali, ottenendo risultati non sempre soddisfacenti. Guardando alla storia più recente, l'utilizzo della terapia elettroconvulsiva e degli psicofarmaci e la mancanza di segnali neurofisiologici attendibili, oscurarono l'utilizzo della corrente diretta sul sistema nervoso centrale come strumento terapeutico e di ricerca, specialmente nel campo della psichiatria. Tuttavia, la corrente galvanica continuò nel frattempo ad essere utilizzata senza interruzioni nel trattamento di disordini muscolo scheletrici e dolori periferici. Questi primi sforzi in campo neurofisiologico dunque, furono probabilmente abbandonati a causa della mancanza di metodi di valutazione affidabili. Quando nel 1998 fu possibile misurare gli effetti dell'applicazione di corrente diretta sulla corteccia motoria, a livello non invasivo, per mezzo della stimolazione magnetica transcranica, la tDCS diventò affidabile in termini di parametri quali l'intensità di stimolazione, la durata e la convalida dei suoi effetti plastici seguenti. Gli studi di Priori e i suoi colleghi (Priori et al, 1998) seguiti da quelli di Nitsche e Paulus (Nitsche e Paulus, 2000), dimostrarono come una debole corrente diretta potesse effettivamente essere inviata a livello transcranico andando ad indurre cambiamenti bidirezionali nella corticale dipendenti dalla polarizzazione. In modo specifico, si notò che la corrente diretta anodica incrementava l'eccitabilità corticale, mentre quella catodica la decrementava. Si prospettò quindi il possibile utilizzo di questa tecnica al fine di analizzare la plasticità e l'eccitabilità cerebrale, e come valida cura nel campo dei disordini neuropsichiatrici.

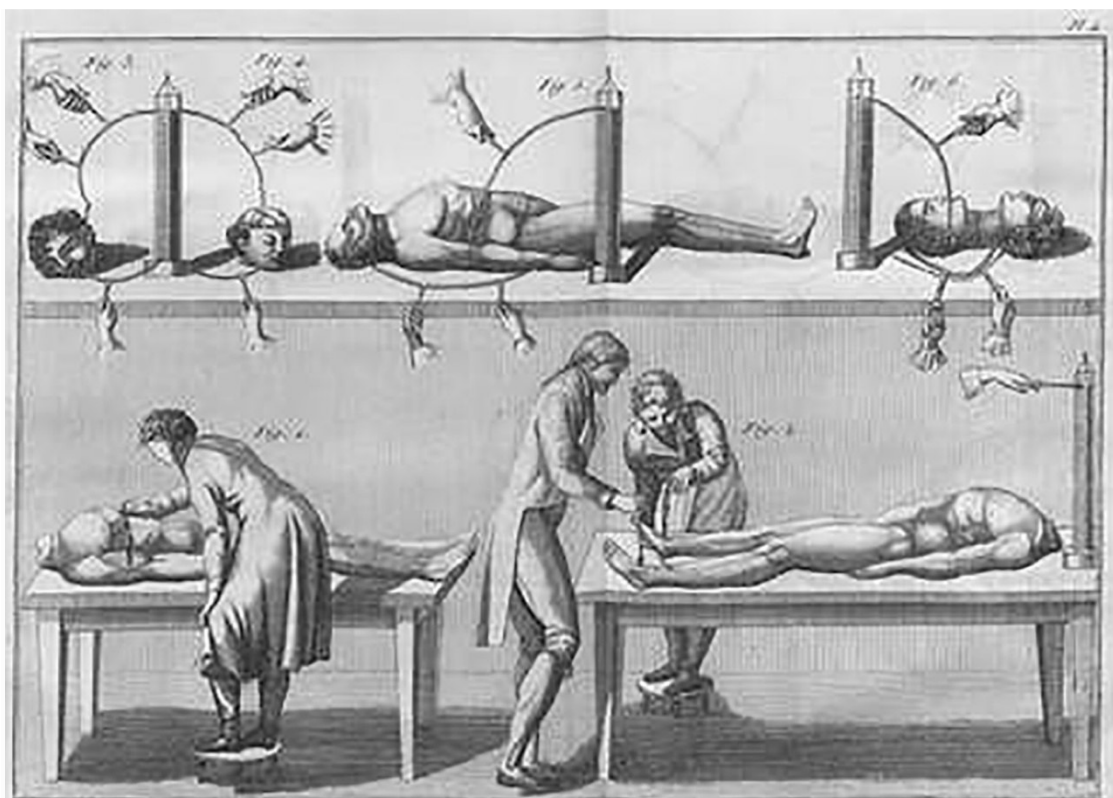


Figura 10: illustrazione degli esperimenti di Giovanni Aldini sui cadaveri

## 2.1 PRINCIPI FISICI E DI FUNZIONAMENTO

La tDCS differisce da altre tecniche non invasive di stimolazione del cervello, come ad esempio la stimolazione elettrica transcranica (TES) e la TMS. Infatti questa tecnica non induce un'accensione neuronale per mezzo di una depolarizzazione soprasoglia della membrana neuronale, ma piuttosto modula l'attività spontanea della rete neuronale. A livello dei neuroni, il meccanismo d'azione primario è un cambiamento (polarizzazione), dipendente dalla polarità della tDCS di cui si discuterà in seguito, del potenziale di membrana a riposo. Dunque si registra un effetto intenso di questa bassa corrente in continua sull'eccitabilità corticale. Questo effetto, in alcuni casi, può perdurare anche fino a qualche ora dopo la stimolazione. Da questo è possibile capire che i meccanismi alla base di questa azione non possono essere solamente attribuiti ai cambiamenti di potenziale elettrico della membrana neuronale, ma anche da modifiche del microambiente sinaptico. La tDCS interferisce inoltre con l'eccitabilità del cervello attraverso la modulazione dei neuroni intracorticali e

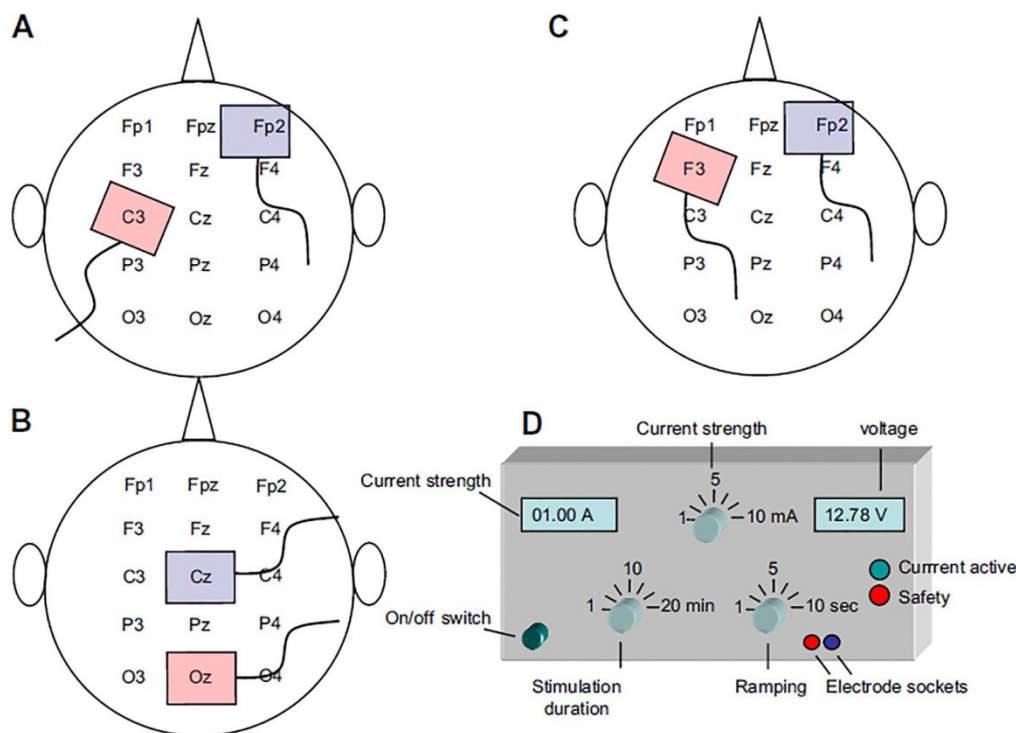
corticospinali. I suoi effetti dunque, possono essere simili a quelli osservati nel potenziamento a lungo termine (LTP), come si è dimostrato in diversi studi. Tuttavia non è ancora chiaro completamente quali siano gli esatti meccanismi di influenza da parte della tDCS sull'ambiente sinaptico.

## **2.2 STRUMENTAZIONE tDCS**

La strumentazione della tDCS dal punto di vista tecnologico presenta una struttura piuttosto semplice rispetto ad altre tipologie di stimolazione. Essa infatti è composta principalmente da due elettrodi ed un dispositivo a batteria in grado di fornire un flusso di corrente costante in maniera continua. A questi componenti di base è poi possibile aggiungere altri dispositivi, quali ad esempio un software di controllo che offre la possibilità di scegliere tra diverse tipologie di stimolazioni o per esperimenti a sessioni multiple, oppure per variare determinati parametri in corso d'opera. In base ai differenti modelli di elettrodi e al loro montaggio è possibile ottenere risultati anche notevolmente differenti.

### **2.2.1 Funzionamento e posizionamento degli elettrodi**

Naturalmente, poiché essi devono creare un circuito chiuso una volta in funzione, i due elettrodi corrispondono a un catodo e a un anodo. Piazzandoli sopra lo scalpo, è possibile modulare un'area particolare del sistema nervoso centrale. Il posizionamento degli elettrodi dunque assume un'importanza fondamentale, ed è solitamente determinato in accordo con il sistema internazionale di EEG 10-20. Per fare un esempio, studi che esplorano la corteccia motoria piazzano gli elettrodi sopra la zona C3 e C4 (figura 11). Gli elettrodi utilizzati solitamente sono in spugna e le superfici spaziano da 25 A 35  $cm^2$ , ma possono variare in ordine di grandezza. Per creare il campo elettrico omogeneo responsabile degli effetti plastici del tessuto neurale, e quindi necessario all'analisi dei tessuti, solitamente viene fatta scorrere all'interno degli elettrodi una corrente continua che può variare da 0.5 a 2 mA, per circa 20-40 minuti. Essa può indurre dei cambiamenti anche durevoli nel cervello, sia di tipo eccitatorio sia di tipo riduttivo, pur rimanendo sottosoglia. Questo tipo di neuro modulazione fornisce di conseguenza un'alternativa pratica e meno invasiva, ad esempio, della



**Figura 11: principali caratteristiche della tDCS. Immagine schematica della posizione degli elettrodi adatta alla tDCS effettuata sulla corteccia motoria primaria (A), sulla corteccia visiva (B), sulla corteccia prefrontale (C) e caratteristiche di uno stimolatore in corrente continua. Le figure A-C mostrano la stimolazione anodica (elettrodo caricato positivamente in rosso) delle rispettive cortecce in accordo con il sistema 10-20. Il catodo (colore blu) è posizionato così che il flusso di corrente risultante (dal catodo all'anodo) permette una modulazione effettiva dell'eccitabilità neuronale sotto l'anodo. Da notare che il termine elettrodo di riferimento (il catodo negli esempi) non significa necessariamente che questo elettrodo è inerte funzionalmente, ma che i cambiamenti dell'eccitabilità neuronale sotto questo elettrodo sono al di là dello scopo d'interesse riguardante il setting specifico sperimentale. Gli elettrodi sono connessi a uno stimolatore di corrente continua (D). lo stimolatore deve essere in grado di inviare diverse intensità di corrente (ad esempio da 1 a 10 mA), diverse durate di stimolazione, e di avere un interruttore a rampa all'inizio e alla fine della stimolazione, per permettere l'utilizzo di protocolli che inducono effetti brevi così come effetti a lungo termine della tDCS, e che permettono di diminuire la percezione all'inizio e alla fine della stimolazione. L'intensità di corrente e il voltaggio sono controllati online durante la stimolazione. Se il voltaggio richiede di inviare una corrente di intensità definita, e la resistenza è troppo alta, la funzione di sicurezza viene attivata al termine della stimolazione.**

stimolazione diretta. La tDCS può infatti essere utilizzata in generale per manipolare l'eccitabilità cerebrale per mezzo della polarizzazione di membrana: una stimolazione catodica iperpolarizza, una stimolazione anodica depolarizza il potenziale di membrana a riposo. A questo proposito, occorre specificare che il flusso di corrente in questione in realtà è un flusso di ioni presenti nel tessuto cerebrale. Pertanto gli ioni positivi tenderanno a scorrere verso il catodo, mentre

quelli negativi scorreranno verso l'anodo. Il flusso viene convenzionalmente considerato diretto dall'anodo verso il catodo, creando come detto un circuito chiuso in cui la corrente passa attraverso il capo.

Esistono due principali tipologie di montaggi per gli elettrodi, ma diverse nomenclature per definirli. Pertanto per ragioni di chiarezza, è ora necessario discutere alcuni termini utilizzati per descrivere il montaggio della tDCS. Quando un elettrodo è collocato sotto il collo, l'intero montaggio è definito "unipolare". Al contrario, i montaggi con i due elettrodi sul capo sono denominati normalmente "bipolari". Questa nomenclatura però potrebbe essere considerata tecnicamente inaccurata, poiché la stimolazione in corrente continua è sempre generata per mezzo di due poli (elettrodi) che generano un dipolo elettrico tra i due elettrodi. Pertanto, una nomenclatura alternativa da utilizzare potrebbe essere quella di "monoencefalico" e "biencefalico" per differenziare i set up "unipolare" e "bipolare" rispettivamente. I ricercatori del campo utilizzano inoltre anche i termini elettrodo "di riferimento" e "di stimolazione" per riferirsi all'elettrodo rispettivamente neutrale e attivo rispetto alla zona da indagare. Comunque, anche il termine "di riferimento" può essere problematico specialmente per il montaggio biencefalico perché l'elettrodo di riferimento non è fisiologicamente inerte e può contribuire alla modulazione dell'attività quanto quello attivo. Questo potrebbe essere un potenziale fattore di confusione. Ciononostante, i ricercatori utilizzano questo termine per sottolineare che, nei loro studi, essi assumono come presupposto che nel loro particolare montaggio un elettrodo sarà considerato di stimolazione, mentre l'altro di riferimento. Ci sono anche casi in cui la possibilità di decrementare o incrementare l'attività in aree cerebrali differenti può essere estremamente vantaggioso. Ad esempio, questo tipo di stimolazione potrebbe risultare importante in condizioni che coinvolgono un'attività interemisferica non bilanciata (come avviene nel caso di un ictus). In scenari come questo, in cui indicare l'elettrodo di riferimento presenta degli effetti contraddittori, viene posizionato un elettrodo extraencefalico di riferimento al fine di evitare questo problema. Questo tipo di montaggio può però portare a un aumento di deviazione di corrente attraverso la pelle (corrente che quindi non raggiungerebbe il tessuto cerebrale), oppure a una dislocazione. Occorre quindi fare attenzione a

scegliere quale sia il montaggio degli elettrodi più vantaggioso nel caso considerato.

Anche se i campi elettrici prodotti dalla tDCS sono relativamente non focali, il posizionamento degli elettrodi è dunque critico. Ad esempio, uno studio ha mostrato che cambiando il riferimento dell'elettrodo dalla DLPFC (corteccia prefrontale dorso laterale) all'M1, si eliminavano gli effetti della tDCS sulla memoria di lavoro (memoria a breve termine). Lo stesso si può dire per la soglia dei fosfeni, che viene modulata solamente durante la tDCS occipitale (corteccia visiva) e non durante quella effettuata su altre aree. In ambito clinico, solamente la stimolazione della DLPFC e non dell'area occipitale portava a un miglioramento dei sintomi del disturbo depressivo maggiore, ulteriore prova di quanto detto sopra. Differenti montaggi e posizionamenti dunque, danno come risultato flussi distinti di corrente attraverso il cervello e quindi l'abilità di regolare il montaggio permette la personalizzazione e l'ottimizzazione della tDCS per specifiche applicazioni.

### **2.2.2 Modelli computazionali**

Il montaggio della tDCS segue dei presupposti di base, ad esempio l'aumento o la diminuzione dell'eccitabilità sotto il catodo o l'anodo, ma negli ultimi anni è stato possibile affiancare alla tecnica una serie di modelli al fine di poter scegliere al meglio il montaggio della strumentazione e di poter prevedere con più precisione il flusso di corrente creato. Questi modelli computazionali sul flusso di corrente a volte hanno addirittura dimostrato che i presupposti di base non erano validi nel caso in questione. Quando si interpretano i risultati di questa stimolazione, è bene riconoscere che l'intensità di corrente che scorre in una qualsiasi area specifica del cervello non si traduce in una semplice maniera lineare nel grado di modulazione cerebrale. Questo aspetto è di particolare importanza quando si studiano modelli che devono riprodurre il più fedelmente possibile i comportamenti dell'organismo durante la stimolazione. I modelli computazionali ad oggi presenti della tDCS variano in complessità da modelli a sfera concentrici a modelli individualizzati ad alta risoluzione, su cui si basa anche l'imaging con risonanza magnetica strutturale (MRI). Il livello di dettaglio appropriato dipende dalle risorse computazionali disponibili e dall'argomento clinico affrontato. Al di là della complessità, tutti i modelli hanno come scopo fondamentale, come già accennato, il



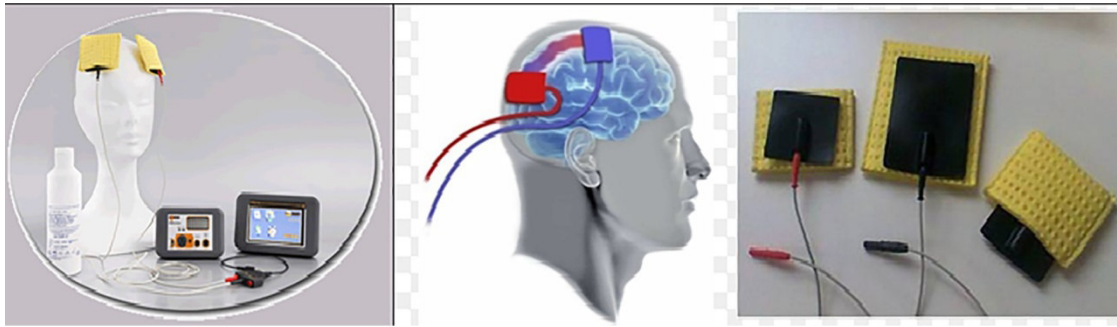
predire il flusso di corrente cerebrale durante la stimolazione transcranica al fine di guidare gli esperimenti clinici in una maniera significativa.

### **2.2.3 Parametri fisici e strumentali per la stimolazione**

Come accennato inizialmente, la stimolazione per mezzo tDCS dipende da numerosi parametri, che molto spesso sono collegati tra loro, sia di tipo strumentale che di tipo fisico. Dal punto di vista strumentale l'attenzione va posta, come descritto, sul montaggio degli elettrodi, ma anche sulla conformazione degli elettrodi stessi. Per quanto riguarda il montaggio, inteso come dimensione e posizionamento degli elettrodi, esso influisce sulla dose di corrente che viene deviata attraverso la pelle, quanta ne viene inviata al cervello e a quali obiettivi. Tutti i dettagli e gli aspetti di questo montaggio contribuiscono dunque insieme a influenzare il flusso della corrente, pertanto sono oggetti di numerosi studi e progetti di modeling volti ad analizzare le semplificazioni nel design e nel dosaggio, anche già applicate in ambito clinico, al fine di comprendere quando esse siano applicabili o meno. Alcuni studi coi modelli hanno ad esempio predetto un ruolo fondamentale della posizione dell'elettrodo di ritorno nella modulazione globale del flusso di corrente, inclusa l'area al di sotto dell'elettrodo attivo o di stimolazione. Più precisamente, per una posizione fissata sulla testa dell'elettrodo attivo, il cambiamento della posizione dell'elettrodo di ritorno (incluso posizioni cefaliche e extracefaliche) influenza il flusso di corrente attraverso la presunta regione scelta direttamente sotto l'elettrodo attivo. Il design degli elettrodi, altro parametro della strumentazione da considerare, può essere di semplice spugna salina in cotone oppure essi possono essere imbottiti di spugna o composti da cerotti disegnati in maniera specifica con una forma unica e materiali specifici, al fine di massimizzare la magnitudine e la focalizzazione (figura 12).

A questo proposito grazie ad alcuni modelli già in utilizzo si è scoperto che se si diminuisce la salinità dell'imbottitura, si riduce il picco della concentrazione di corrente ai margini degli elettrodi anche se la corrente totale applicata e la densità media di corrente sono fissate. È dunque un altro fattore da tenere in considerazione. Infine, la durata della stimolazione, il numero di sessioni per giorno e gli intervalli tra due sessioni possono anch'essi contribuire all'invio di una diversa

quantità di corrente elettrica, inducendo così effetti fisiologici anche contrari tra loro.



**Figura 12: esempio di elettrodi in spugna per la tDCS.**

Questi parametri di tipo tecnico naturalmente permettono di variare numerosi parametri di tipo fisico. Tra questi è necessario ricordare la densità di corrente, il già menzionato flusso di corrente, la durata e l'intensità dello stimolo, la polarizzazione degli elettrodi, il dosaggio della corrente e le possibili deviazioni, la resistenza dei vari tessuti e i difetti cerebrali.

Prima di tutto, la densità media di corrente (corrente totale/area degli elettrodi) è un utile metro per la somministrazione, specialmente per definire la sicurezza della stimolazione tDCS. Inoltre, essa può essere utile nella normalizzazione di risultati neurofisiologici specifici, come per esempio i MEP suscitati con la TMS. Tuttavia non esiste una relazione universale tra densità di corrente e la modulazione cerebrale quando si considera lo spettro completo dei possibili montaggi dell'elettrodo. Lo studio di questo parametro inoltre è di fondamentale importanza per il comportamento della corrente in corrispondenza dei solchi e delle circonvoluzioni presenti nel cervello umano. La corrente infatti potrebbe concentrarsi proprio su di essi provocando degli effetti non omogenei su tutta l'area considerata. In ogni caso la corrente che effettivamente raggiunge i tessuti neuronali voluti dipende anche da

altri fattori. Tra questi polarizzazione, la durata e l'intensità dello stimolo possono influenzare in modo consistente i risultati ottenuti per mezzo della tDCS sulle aree cerebrali. I loro effetti possono interfacciarsi anche con l'effetto di farmaci attivi a livello neuro farmacologico co-applicati, che possono prolungare molto notevolmente o addirittura invertire gli effetti della stimolazione e costituiscono quindi un altro fattore da tenere in considerazione. Per quanto riguarda la polarizzazione degli elettrodi, essa risulta decisiva nella direzione degli effetti post-stimolazione. Se l'anodo è applicato, ad esempio, al di sopra della corteccia motoria, la stimolazione magnetica transcranica dà luogo a un MEP più grande. Se invece è il catodo ad essere posizionato sopra la corteccia motoria, la dimensione del MEP sarà più ridotta. Il ruolo della durata della stimolazione invece non è sempre stato chiaro. Originariamente sembrava che più a lungo fosse durata la stimolazione, più a lungo sarebbero durati gli effetti post-stimolazione indipendentemente dalla tipologia. Così, per esempio, una stimolazione tDCS di una durata di 5-13 minuti con l'anodo avrebbe avuto degli effetti post stimolazione che incrementavano in maniera proporzionale e che avevano una durata di 1-2 ore dopo la stimolazione tDCS allo stesso modo del catodo. Si scoprì però in seguito che lo stimolo inviato per mezzo del catodo era leggermente più efficiente rispetto alla stimolazione anodica, con una durata di un'ora dopo soli 9 minuti di tDCS. Dati più recenti hanno anche evidenziato che esiste un limite superiore per la sopportazione degli effetti eccitatori post-stimolazione per la stimolazione della tDCS anodica. L'applicazione di 26 minuti di impulsi tDCS anodici ad esempio, invece di avere un effetto eccitatorio provocano un'inibizione. Se si effettuano applicazioni di tDCS catodica continua subito dopo, gli effetti post-stimolazione non commutano comunque in eccitazione o comunque non hanno un effetto così prolungato come per stimolazioni più brevi. Ci si aspetta dunque che questo modello limite venga rispettato in tutti i casi di stimoli più prolungati, e anche recentemente sono state portate altre prove a favore di questa tesi, stabilendo l'inversione degli effetti dopo una determinata durata della stimolazione. A questo proposito pare che gli effetti siano dovuti ai meccanismi che regolano i canali ionici di calcio di tipo L con porta a potenziale, anche se sono necessari ulteriori studi. Infine, ci sono alcuni parametri che sono strettamente correlati tra loro, ed è dunque necessario trattarli insieme: il dosaggio, la deviazione di corrente e la

resistenza dei tessuti. Il dosaggio della tDCS è fortemente dipendente dal paziente stesso e dalle sue condizioni fisiche. Degli studi recenti hanno suggerito che le differenze anatomiche individuali possono influenzare il flusso di corrente attraverso la corteccia in maniera consistente. Una questione che va affrontata è quindi il cambiamento di dose di tDCS per gli individui, ad esempio, con difetti del cranio o lesioni relazionate a un ictus. Questi individui possono essere degli ottimi candidati per la terapia con la tDCS, tuttavia c'è il rischio che le lesioni e i difetti posano distorcere il flusso di corrente. Ad esempio, una lesione qualsiasi del fluido cerebrospinale, incluso quelle relazionate all'ictus o al danneggiamento dovuto ad un trauma del cervello, si pensa che possano deviare il flusso della corrente o creare delle disomogeneità nell'area analizzata. Nel caso ideale, la tDCS viene regolata in maniera specifica per il paziente e per la sua particolare lesione, per ottenere vantaggi da questa distorsione nel guidare il flusso di corrente nelle regioni interessate, evitando allo stesso tempo qualsiasi preoccupazione legata alla sicurezza. Non sempre scegliere il dosaggio appropriato in questi casi è semplice. Per mezzo di alcuni studi con modelli, è stato provato che per una tipica tDCS dosi significative possono raggiungere ampie aree corticali, specialmente tra e sotto le superfici degli elettrodi anche nei casi sopracitati. Non solo nei casi patologici però si possono avere delle deviazioni di flusso. Innanzitutto la corrente non passa uniformemente attraverso la pelle, ma tende a concentrarsi nei pressi dei margini degli elettrodi o in corrispondenza delle disomogeneità della pelle, pertanto è necessario compiere studi di modeling per sviluppare una nuova generazione di tecnologie volte a diminuire questo tipo di disuniformità. Inoltre, in aggiunta alla deviazione dello scalpo, occorre considerare anche la diversa resistenza delle strutture coinvolte. Tra queste menzioniamo la resistenza della pelle, del cranio delle strutture intracraniche (vasi sanguigni, fluido cerebrospinale e meningi) e la resistenza dei tessuti cerebrali, che varia in base al tipo di cellule e delle strutture (cellule gliali, neuroni piramidali, materia bianca e così via). Alcuni passi sono stati già compiuti per migliorare la specificità della tDCS, incluso l'utilizzo di una spugna più spessa di composizione degli elettrodi, ma sono ancora necessarie ulteriori analisi per determinare il ruolo del montaggio degli elettrodi e della differenza in resistenza nella neuro modulazione e nell'individuazione degli obiettivi. La consapevolezza di questa complessità del flusso che attraversa la testa, rinforza

l'utilizzo dei modelli computazionali precedentemente descritti, al fine di portare contributi nella progettazione della dose di tDCS e di avere più solidi fondamenti nelle decisioni riguardanti il dosaggio e la tipologia di stimolazione più adatta e, non meno importante, più sicura.

## **2.3 TIPOLOGIE DI STIMOLAZIONE E APPLICAZIONI**

Nel corso del tempo si sono sviluppate diverse tipologie di stimolazione transcranica, che hanno trovato applicazione in una moltitudine di ambiti in campo clinico, diagnostico e sperimentale. Di seguito si descriveranno le tre principali tecniche di stimolazione di questo genere: la tDCS vera e propria (corrente diretta), la tACS (corrente alternata) e la tRNS (random noise).

### **2.3.1 La tDCS**

La stimolazione con corrente continua e diretta ha numerosissime applicazioni sia su aree corticali motorie e non, sia su aree non corticali. Sono stati condotti esperimenti sul cervelletto, applicata al quale la tDCS può modificare i MEP in base alla polarità, sulla corteccia motoria, sul midollo spinale a livello toracico, e sui processi di nocicezione. Addirittura, sono stati condotti degli esperimenti sulla stimolazione dei nervi periferici e sul midollo spinale che hanno mostrato che gli effetti della corrente sono anche non sinaptici e verosimilmente coinvolgono cambiamenti transitori nella densità dei canali proteici localizzati sotto l'elettrodo di stimolazione. Pertanto le applicazioni della tDCS sono prevalentemente cliniche e sperimentali, mentre in ambito diagnostico si preferiscono ancora altre tipologie di stimolazione come la TMS. A questo proposito, al di là degli effetti “diretti” osservabili sulla zona interessata dalla stimolazione, sono stati osservati anche dei cosiddetti effetti indiretti. Questi effetti consistono in alterazioni legate alla conduttività di aree corticali e subcorticali distanti. Stranamente infatti, la tDCS modula non solo la singola

attività del neurone, ma anche le oscillazioni spontanee neuronali. È dunque possibile in ambito sperimentale analizzare diverse aree anche senza stimolarle direttamente. Sempre in ambito sperimentale, la tDCS è stata utilizzata per analizzare la corteccia motoria per quanto riguarda i potenziali motori, l'area corticale visiva e l'ambito somatosensoriale e i loro relativi potenziali, nonché per analizzare la conduzione lungo il midollo spinale e il riflesso segmentale dei fasci. Inoltre ha svolto un ruolo estremamente utile nell'analisi dell'influenza del campo elettrico su alcuni tessuti differenti (vasi sanguigni, tessuto connettivo) e meccanismi patofisiologici (infiammazione, migrazione cellulare, motilità vascolare). In questo ambito si è scoperto, ad esempio che sotto l'elettrodo anodico della tDCS esso può indurre una prolungata vasodilatazione cerebrale, a testimonianza dell'influenza della tDCS anche su componenti non neuronali del sistema nervoso centrale. Infine, è stata studiata anche la sua influenza su strutture multicellulari come il citoscheletro, mitocondri e membrane, fornendo un contributo importante nella comprensione dei meccanismi che regolano l'ambiente cellulare. Nonostante ciò i meccanismi d'azione del sistema nervoso centrale devono ancora essere del tutto chiariti, e questa è una questione che può avere delle ripercussioni anche sulle future applicazioni cliniche.

Proprio per quanto riguarda l'aspetto clinico, la tDCS ha avuto in questo campo il suo sviluppo maggiore portando dei notevoli contributi in ambiti anche molto differenti tra loro. Naturalmente non è possibile descriverli tutti, ma è necessario almeno considerare quelli principali al fine di comprendere quante applicazioni diverse tra loro possa avere la tDCS. Tra i principali ambiti si ricordano l'ambito linguistico, della cura per l'emicrania, della memoria, di terapia di malattie neurodegenerative, la cura della depressione e l'affiancamento alla farmacoterapia.

#### **a. tDCS e ambito linguistico**

Nell'ambito del linguaggio la tDCS ha dimostrato di avere numerosissime applicazioni. Essa infatti può provocare miglioramenti

nel rilevamento di errori sintattici in pazienti che, ad esempio, a causa di alcuni traumi non riescono più nello svolgimento di questo compito. È da notare che la stessa stimolazione apportata a una zona diversa del cranio rispetto a quella utilizzata per ottenere miglioramenti non ha permesso di rilevare gli stessi risultati, confermando ancora una volta l'importanza del posizionamento degli elettrodi sul cranio. Un altro aspetto dell'ambito linguistico che è stato preso in considerazione è la fluidità verbale. In diversi studi si è notato che l'applicazione della tDCS sull'area di Broca era in grado di apportare miglioramenti sia in ambito semantico sia in quello fonemico. Lo stesso è stato osservato sull'area di Wernicke. Altri studi sono stati svolti sulla capacità di recuperare e ricordare parole precedentemente apprese, o di imparare un nuovo lessico. È importante sottolineare che si sono riscontrati miglioramenti anche in questo caso, ma solo con la stimolazione anodica e non con quella catodica. Pertanto, come discusso precedentemente, anche la polarità ha un ruolo importante nell'applicazione della tDCS. Sempre in campo linguistico una delle applicazioni più importanti della tDCS è quella per la cura della dislessia e dell'afasia, rispettivamente riguardanti l'incapacità di leggere senza sforzo o di capire cosa si legge e l'incapacità di imparare a scrivere con facilità. Mentre la dislessia è un disturbo che ha origini naturali, le afasie possono essere dovute a lesioni quali tumori, danni vascolari e traumi di particolari zone del sistema nervoso appartenenti alla corteccia cerebrale. Queste lesioni alterano solo piccole parti delle aree cerebrali, e di conseguenza hanno effetti altrettanto specifici sul linguaggio (difficoltà nell'emissione e comprensione del linguaggio parlato problematiche intellettive e cognitive, ...). La tDCS è in grado di fornire una stimolazione mirata sulle zone colpite e in molti casi sono stati osservati miglioramenti in pazienti che si sono sottoposti a una terapia di questo tipo. Solitamente si posizionano gli elettrodi al di sopra delle zone attivate dai programmi di allenamento a supporto dello sviluppo già avviato, oppure sopra a zone notoriamente ipoattive in questo genere di disturbi. In questi ambiti inoltre sono stati riscontrati anche dei miglioramenti a lungo termine nelle prestazioni richieste

durante la stimolazione, a testimonianza del possibile utilizzo della tDCS come terapia a lungo termine. È da sottolineare che in questo caso però la tDCS deve essere ed è affiancata anche a tecniche di allenamento comportamentale per migliorarne l'efficacia.

### **b. tDCS e emicrania**

Come anticipato, la tDCS è utile anche come cura per l'emicrania. Essendo l'emicrania una sindrome frequente e a volte invalidante, in particolare nella sua forma cronica, i suoi costi sanitari e quelli connessi all'invalidità e alla conseguente inabilità al lavoro sono ingenti, e spesso i margini di efficacia delle terapie preventive del dolore cefalgico e dell'abuso farmacologico sono ad oggi ancora limitati. Lo stesso vale per la sindrome fibromialgica spesso associata all'emicrania cronica. La tDCS è oggi riconosciuta come intervento terapeutico privo di effetto collaterale significativo, sicura ed efficace in molte tipologie di dolore cronico. Il suo utilizzo in caso di emicrania ha ridotto in maniera significativa la frequenza della cefalea. Considerando i bassi costi dell'apparecchiatura per la stimolazione a corrente continua tra l'altro, può essere utilizzata per un ampio spettro di pazienti garantendo anche un guadagno economico. Tutt'ora essa viene applicata posizionando l'anodo sulla derivazione C3 del sistema 10-20 internazionale, risultando efficace nel trattamento del dolore cronico.

### **c. tDCS e memoria**

Un altro ambito clinico in cui la tDCS ha dato risultati notevoli è quello della memoria. È stato osservato come la tDCS possa svolgere un ruolo fondamentale nel miglioramento della memoria successivo alla stimolazione per mezzo di tDCS. Il posizionamento dell'elettrodo sulla corteccia motoria e l'utilizzo anodico della tDCS, hanno reso possibile il miglioramento relativo alla capacità e alla durata delle facoltà proprie della memoria motoria. È importante sottolineare questo aspetto della tDCS poiché esso trova una sua importante applicazione nell'ambito delle malattie neurodegenerative. Tra queste, le più conosciute sono



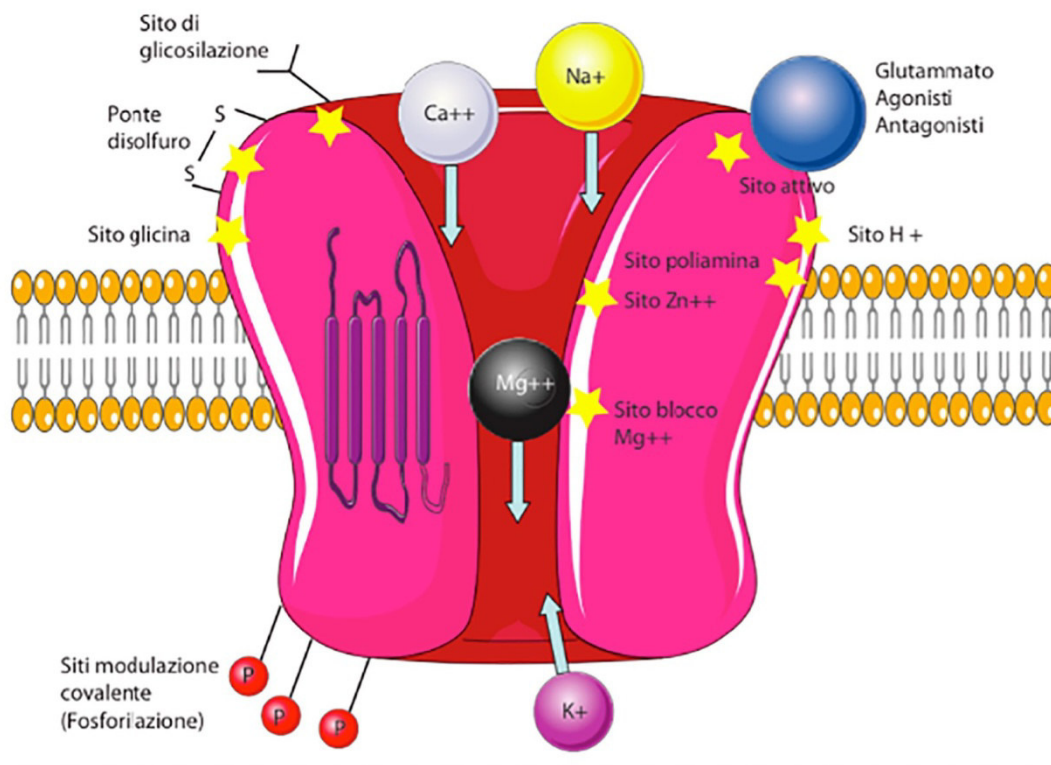
l'Alzheimer e il morbo di Parkinson. Per quanto riguarda l'Alzheimer, l'alto numero di soggetti che ne risulta colpito e la gravità della patologia ha reso necessaria la ricerca di un metodo che potesse in qualche modo far fronte a questa difficile condizione. Al di là delle terapie farmacologiche, la tDCS si è presentata come una valida alternativa anche grazie alla sua non invasività. Posizionando gli elettrodi di stimolazione anodica sopra le aree parietali, si sono ottenuti miglioramenti nella memoria, mentre nel caso di quella catodica si è ottenuto l'effetto contrario. Si pensa inoltre che possa risultare utile compiere una stimolazione sulle aree prefrontale e temporale, dal momento che sono le aree maggiormente affette da questa malattia. Infine, è stato condotto uno studio in cui veniva richiesto al paziente di imparare il maggior numero di associazioni tra un volto e un nome possibili, e si è osservato che abbinando la tDCS a un comunque necessario allenamento, si ottenevano dei miglioramenti consistenti da parte dei pazienti affetti da questa patologia. È importante sottolineare la specificità di queste particolari stimolazioni, che non presentano alcun effetto se eseguite su altre aree, a dimostrazione dell'elevata specificità del trattamento ma anche dell'allenamento abbinato. L'altra malattia conosciuta e che colpisce buona parte della popolazione al di sopra dei 50, come anticipato, è il morbo di Parkinson. In questo caso si può ricorrere a profonde stimolazioni cerebrali in grado anche di far fronte alle conseguenze negative dell'utilizzo dei farmaci, anche se esse hanno come svantaggio il fatto di essere più invasive. Tuttavia la tDCS essendo non invasiva rappresenta una valida alternativa da affiancare al trattamento farmacologico nella cura della malattia. Il suo compito è di intervenire per mezzo di neuro modulazione sulle aree particolarmente ipoattive durante la malattia, tra cui la corteccia motoria, nel tentativo di compensare i deficit presenti. Grazie ad alcuni studi è stato possibile verificare come l'applicazione della tDCS anodica sia in grado, ad esempio, di dare vita a significativi miglioramenti in termini di funzioni di movimento in presenza di un posizionamento elettrodo al di sopra della corteccia motoria primaria, oppure dei miglioramenti a livello

della memoria di lavoro in seguito al rilascio di una corrente anodica al di sopra della corteccia prefrontale dorso laterale. Altri miglioramenti ancora riguardavano la bradicinesia e l'andatura dopo ripetute sessioni anche dopo mesi dalla stimolazione.

#### **d. tDCS e disturbi depressivi**

La tDCS, quasi unica tra le tecniche di stimolazione, ha già applicazioni anche nel trattamento di disturbi depressivi. In questo ambito sono state effettuate più stimolazioni nel corso del tempo, e quasi tutti i soggetti hanno rilevato un miglioramento nello stato depressivo. Questo tipo di trattamento risulta particolarmente utile in individui resistenti ai farmaci, che quindi non possono sottoporsi al normale iter di cura previsto per la depressione. Generalmente le sedute consistono in stimolazioni di 20 minuti al giorno per un massimo di 6 settimane. I miglioramenti riscontrati rassicuravano anche sulla non invasività della tDCS dal punto di vista cognitivo. Inoltre, la tDCS è stata utilizzata anche al fine di comprenderne il ruolo relativamente al favorire la concentrazione e l'attenzione rispetto ai tanti pensieri di disturbo propri dei soggetti patologici. I risultati ottenuti hanno effettivamente dimostrato che la tecnica produce un aumento di prestazioni in particolari task e performance ad essa associate. Naturalmente, essendo un ambito di studi legato a quello comportamentale di difficile interpretazione, occorre tener conto di numerosissimi parametri nell'interpretazione dei dati e nelle modalità di stimolazione, di cui alcuni non ancora completamente noti. Infine, dopo aver analizzato quante possibili sfaccettature si possono presentare nelle applicazioni della tDCS in ambito clinico, è di fondamentale importanza descrivere la relazione di questa tecnica con la farmacoterapia, con la quale la tDCS spesso si trova ad interagire. Spesso infatti vengono utilizzati diversi farmaci per bloccare o aumentare l'attività dei neurotrasmettitori e dei loro recettori, al fine di osservare come e se l'eccitabilità corticale indotta dalla tDCS viene appunto indotta. Questi studi hanno lo scopo di accrescere la conoscenza riguardo ai meccanismi di azione della tDCS per quanto

riguarda la neuro modulazione e la neuro plasticità, ma anche a poter comprendere come in ambito clinico la tecnica può interagire con farmaci che vengono somministrati al paziente in alcuni casi. I neurotrasmettitori più coinvolti dalla tDCS sono i recettori NMDA-glutammatergici (figura 13). Essi sono coinvolti nella plasticità inibitoria o facilitatoria indotta dalla tDCS. Bloccare i recettori NMDA sopprime gli effetti post-stimolatori della tDCS, mentre un aumento dell'efficacia dei recettori NMDA favorisce la plasticità selettiva facilitatoria.



**Figura 13: rappresentazione schematica del canale NMDA per il glutammato. Il sito recettoriale è collocato lateralmente al canale ionico. Il glutammato modifica la conformazione tridimensionale del canale permettendo l'accesso nella cellula di calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e sodio ( $\text{Na}^+$ ). In condizioni fisiologiche il canale è bloccato da molecole di magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), ma può essere sbloccato da alcuni farmaci.**

Agendo dunque su questi recettori per mezzo di farmaci, si può inibire o amplificare l'azione della tDCS, a testimonianza della stretta relazione tra la farmacoterapia e la tDCS. Questo può essere un problema, come detto, quando si studiano dei campioni clinici che ricevono ambo gli interventi. Infatti, le interazioni complesse non lineari rendono difficile

prevedere l'effetto specifico delle alterazioni patofisiologiche o l'applicazione dei farmaci nella quantità o direzione della plasticità indotta dalla tDCS. Per questo sono ancora necessarie ulteriori ricerche empiriche su questo problema.

### **2.3.2 La tACS**

Una seconda tipologia di stimolazione è la tACS. Questo metodo tuttavia è ancora molto poco conosciuto, e lo stesso vale per i suoi effetti sul tessuto cerebrale. Con questa tecnica è possibile applicare sulla corteccia una corrente che oscilla a una determinata frequenza per indurre una sincronizzazione (entrainment) neurale. La tACS può dunque diventare in futuro uno strumento in grado di interagire con le oscillazioni corticali inducendo un entrainment delle frequenze stesse, contribuendo quindi ad una migliore comprensione delle comunicazioni corticali nei processi cognitivi. Inoltre, questa tecnica ha già dimostrato di provocare degli effetti a lungo termine anche post stimolatori, pertanto potrebbe risultare utile nell'ottenere degli effetti neuro plastici durevoli nel tempo.

### **2.3.3 la tRNS**

Infine, più recentemente è nato molto interesse nei confronti di un nuovo metodo di stimolazione elettrica, la tRNS (transcranial random noise stimulation). La tRNS consiste nell'applicazione sulla corteccia di una corrente alternata a frequenze random che variano 0.1 e 640 *Hz*. È stato dimostrato che l'utilizzo della tRNS sulla corteccia motoria ad alta frequenza (101-640 *Hz*) induce una modulazione positiva dell'eccitabilità corticale. Un risultato simile è stato trovato in ambito percettivo-visivo, nel quale la tRNS migliorava la prestazione più delle altre tecniche, come ad esempio la tDCS sia catodica sia anodica. Il meccanismo attraverso il quale la tRNS migliora le prestazioni potrebbe essere basato sulla stimolazione ripetuta a frequenze random che può provenire l'omeostasi del sistema e potenziare l'attività neurale correlata al compito. Questi risultati sottolineano comunque il grande potenziale di questa nuova tecnica anche in ambito neuro plastico.

Tuttavia le sue applicazioni non sono ancora consolidate, o comunque non hanno una struttura già chiara e definita da poter applicare a livello clinico e diagnostico.

## **2.4 FUTURO E PROBLEMATICHE DELLA TECNICA**

Essendo una tecnica relativamente recente, la tDCS come le sue metodologie alternative di stimolazione hanno ancora un vasto orizzonte di applicazioni che ancora devono essere studiate e regolate, e presenta numerose potenzialità.

Come si è visto, la tDCS ha dimostrato di essere un valido aiuto nel trattamento di disordini neurologici quali, ad esempio, il Parkinson. Negli ultimi anni sono stati avviati altri studi non solo per migliorare l'applicazione della tDCS a questa patologia, ma per estendere il suo utilizzo anche ad altri disturbi quali dolore cronico, deficit motori di altro genere ed epilessia. Recentemente è stato mostrato inoltre che una singola sessione di tDCS può migliorare i deficit di attenzione visuospatiale in pazienti con un neglect causato dall'ictus, aprendo nuove possibilità nella riabilitazione del paziente. È stato anche dimostrato che questa tecnica possa contribuire a dei miglioramenti sia nel caso di abilità di denominazione nell'afasia vascolare, sia nel caso della memoria di riconoscimento nei pazienti affetti da Alzheimer.

Al di là di queste applicazioni, come già anticipato nel capitolo precedente sembra che queste tecniche possano anche essere di fondamentale importanza nell'analisi della neuro plasticità del cervello e delle oscillazioni neuronali, nonché nella comprensione di alcuni meccanismi comportamentali e fisiologici del sistema nervoso. Infine, sono stati condotti studi che dimostrano che un campo elettrico come quello creato dalla tDCS è in grado di favorire la crescita neuronale, e lo stesso vale per i nervi. Pertanto questa tecnica potrà forse offrire in futuro anche la possibilità di interagire con aree cerebrali lese per aiutarne la ripresa dell'attività normale. Per concludere insomma, esiste uno spettro infinito di possibilità di stimolazione con l'utilizzo delle tecniche di stimolazione elettrica transcranica. Una delle sfide che si dovrà affrontare in futuro sarà quella di rivelare i loro meccanismi fisiologici individuali, al fine di trovare la soluzione più semplice per la manipolazione dell'eccitabilità corticale nel contesto riabilitativo.

I meccanismi neurali responsabili dei miglioramenti prolungati indotti dalla tDCS infatti sono principalmente sconosciuti, soprattutto quelli che regolano le influenze di un'area stimolata su quelle adiacenti non stimolate.

#### **2.4.1 Limiti della tDCS**

Come tutte le tecniche in questo ambito, soprattutto così recenti, la tDCS presenta diversi limiti, sia dal punto di vista prettamente strumentale, sia dal punto di vista dell'utilizzo.

Per quanto riguarda l'ambito strumentale, un potenziale problema deriva dal fatto che gli strumenti della tDCS non sono standardizzati a livello mondiale. Questi strumenti infatti possono essere facilmente costruiti utilizzando l'attrezzatura e la tecnologia standardizzata nei laboratori di ingegneria anche al college o nelle università. Di conseguenza si possono trovare almeno una dozzina di strumentazioni tDCS differenti in tutti i laboratori di modulazione a livello mondiale, rendendone difficoltosa l'universalizzazione. Gli strumenti della tDCS inoltre non sono cambiati drasticamente dai tempi in cui la batteria fu scoperta per la prima volta. Pertanto la tecnologia convenzionale presenta determinati limiti. Questi includono la focalizzazione dell'area stimolata, la profondità di penetrazione e il controllo della localizzazione del bersaglio.

Recentemente si è discusso anche su quale fosse la stimolazione più vantaggiosa tra quella monoencefalica e quella biencefalica. Il set up biencefalico risulta molto efficace, mentre quello monoencefalico in alcuni casi non è diverso dalla falsa stimolazione. In aggiunta, utilizzando una corrente molto alta, nel caso del set up monoencefalico esiste il rischio potenziale di influenzare l'attività dell'asse del cervello, incluso il controllo respiratorio. È da notare che questo rischio è stato osservato solamente in un report storico, ciononostante non può essere ignorato. I ricercatori, nella scelta della posizione extraencefalica, devono dunque essere sicuri che un campo elettrico significativo venga indotto nell'area cerebrale considerata, ma senza che questo vada a danneggiare funzioni cerebrali anche vitali. In più, poiché la direzione del flusso della corrente, e quindi la forma e direzione del campo elettrico relativo all'orientamento neuronale può determinare alcuni degli effetti della tDCS, occorre prestare attenzione al fatto che gli effetti di un elettrodo extraencefalico possano differire in maniera rilevante

rispetto a quelli dell'elettrodo nella posizione bipolare. Questo tipo di problema è stato in parte risolto aumentando la dimensione dell'elettrodo e riducendo di conseguenza la densità di corrente, così da poter effettuare una stimolazione funzionale monoencefalica anche con un montaggio ad elettrodi biencefalici.

#### **2.4.2 tDCS e sicurezza**

La sicurezza della tDCS è stato un fattore su cui sono stati compiuti numerosissimi studi. Anche se la tDCS differisce da altre tecniche neuromodulatorie non invasive nel fatto che non induce un potenziale d'azione neuronale e correnti elettriche deboli, ci sono infatti dei parametri sulla sicurezza a cui ci si deve rivolgere. Se i prodotti elettrochimici generati da questa corrente vengono a contatto con la pelle, ad esempio, può verificarsi un'irritazione. In più il riscaldamento del tessuto associato alla pelle non intatta (e quindi particolarmente importante in pazienti con malattie della pelle e in protocolli che utilizzano la tDCS in applicazioni giornaliere e correnti molto alte), può provocare una bruciatura della pelle, anche se il leggero rossore che può verificarsi a livello locale è probabilmente legato alla vasodilatazione della pelle più che a danni della cute. Inoltre non sono mai stati registrati degli aumenti di temperatura per i protocolli standard di tDCS, ed essa è stata testata su migliaia di soggetti in tutto il mondo senza riscontrare prove di una sua eventuale tossicità. Parlando per cifre, i risultati di diversi test di sicurezza hanno dato circa il 5 % di risultati sfavorevoli in tutto. Gli effetti più comuni riscontrati, ma che non sono da considerarsi gravi, sono una lieve sensazione di formicolio (75%), una sensazione di prurito (30%), un moderato affaticamento (35%) e mal di testa (11,8%). La maggior parte di questi effetti non differivano tra l'altro dalle simulazioni placebo. Quindi di fatto sono stati riscontrati solamente degli effetti collaterali moderati con bassa diffusione. Il massimo effetto collaterale riscontrato è la lesione della pelle dove viene applicato l'elettrodo, ma si è presentato in casi rarissimi e molto spesso nelle condizioni della pelle descritte sopra. Storicamente, vi è un unico effetto collaterale molto grave osservato durante i primi studi sulla tDCS. Nel 1960 infatti, Lippold e Redfearn riportarono una breve paralisi respiratoria e motoria con il montaggio dell'elettrodo bi frontale e con il riferimento della corrente posto nella gamba. Non ci fu alcuna perdita di conoscenza,

e la respirazione ritornò normale quando la corrente venne interrotta. Questo fenomeno fu attribuito al fatto che il soggetto ricevette 10 volte tanto l'intensità voluta, probabilmente 3 mA, ed in seguito non è stato mai più osservato. Un'altra informazione interessante che deriva da questo tipo di studi, è che la durata della tDCS diventa una questione di sicurezza solamente quando l'intensità della stimolazione è vicina alla soglia associata con le lesioni neuronali che sono state osservate procedendo con esperimenti sugli animali. In questi esperimenti si era effettuato un esame istologico dei tessuti in seguito a una stimolazione con densità di corrente sempre più elevate. Danni cerebrali erano apparsi solamente quando la densità di corrente era almeno di due ordini superiori alla grandezza tipicamente utilizzata nella stimolazione umana, e in presenza di questi si osservava anche un aumento della temperatura cerebrale mai osservata durante i protocolli convenzionali della tDCS. Questi studi inoltre hanno mostrato la loro utilità per testare i dosaggi ed esaminare gli aspetti fisiologici dei meccanismi della tDCS, anche se molte di queste modalità di funzionamento sono, come detto, ancora del tutto oscure.

#### **2.4.3 tDCS e modelli computazionali futuri**

Al fine di sopperire alle mancanze sopra citate e allo scopo di prevenire eventuali effetti collaterali della tecnica, sono state proposte recentemente delle tecnologie che utilizzano array di elettrodi, come per esempio l' "High Definition" tDCS (detta HD-tDCS) e molte altre (ad esempio, l'utilizzo simultaneo di monitoraggio EEG durante la tDCS per bilanciare il dosaggio e i parametri). Integrando la moderna tecnologia con le tecniche di stimolazioni transcraniche sicuramente il controllo clinico e l'efficacia miglioreranno. A questo proposito, si è accennato in precedenza all'utilizzo di modelli al fine di studiare e prevedere il comportamento del flusso in relazione ai diversi tessuti cerebrali. Questi modelli sono progettati al fine di ridurre qualsiasi rischio legato alla sicurezza nell'utilizzo della tDCS. Recentemente si è posta una grande enfasi sullo sviluppo di modelli sempre più accurati e complessi, come ad esempio scanner anatomici ad alta risoluzione (1 mm). Di conseguenza certe questioni tecniche universali devono essere considerate per modelli ad alta precisione,



così che il funzionamento dell'intero modello del flusso possa preservare la sua precisione (figura 14).

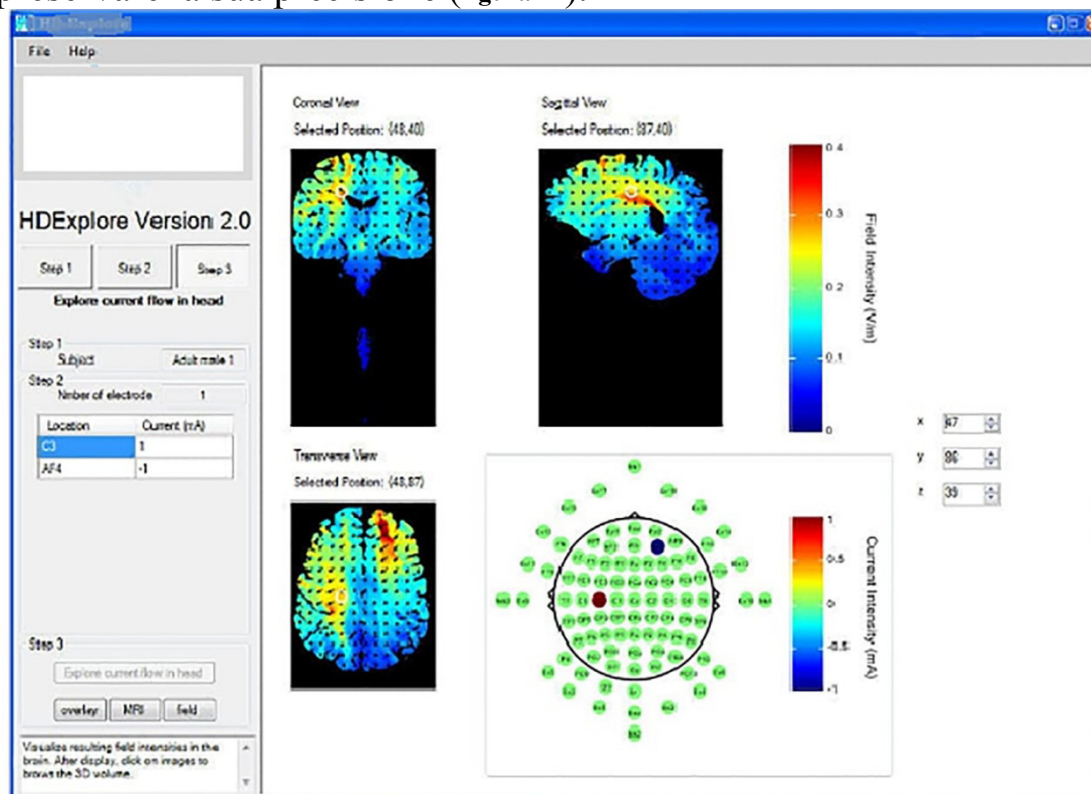


Figura 14: esempio di software per l'analisi con tDCS

Tutti i modelli sviluppati della testa umana per la tDCS sono limitati dalla precisione e dall'accuratezza delle dimensioni tissutali (le cosiddette “ masks”) e dai valori di conduttività incorporati (inomogeneità e anisotropia). Un elemento caratteristico per quanto riguarda la precisione è la superficie corticale utilizzata nella maschera risoltrice finale di elementi finiti, che dovrebbe rappresentare in modo realistico i solchi e le circonvoluzioni. Allo stesso tempo, una conoscenza a priori dell'anatomia dei tessuti e dei fattori noti per dar forma al flusso di corrente sono applicati per rifinire ulteriormente la segmentazione. Particolarmente critiche sono le discontinuità che non sono presenti in natura, risultato della limitazione nella risoluzione dello scan. In particolare, le perforazioni innaturali dei tessuti planari, come ad esempio le cavità nel fluido cerebrospinale dove il cervello è a contatto con il cranio, e le microstrutture, come ad esempio i vasi sanguigni incompleti o voxelizzati, possono provocare anomalie nella predizione del flusso di corrente, inficiando in parte la stimolazione tDCS. Un'aggiunta di

complessità senza una giusta parametrizzazione dunque può evidentemente diminuire l'accuratezza nella predizione dei risultati. Un bilanciamento improprio di questi fattori infatti può portare a una distorsione nel flusso della corrente nel cervello di un ordine di grandezza o più, poiché l'aumento di complessità incontrollato ha appunto la distorsione come primo effetto collaterale. Perciò si enfatizza che la più appropriata metodologia (che spazia dalla sfera concentrica ai modelli individualizzati) dipenda infine dal quesito che viene posto.

#### **2.4.4 Considerazioni finali**

Il problema della sicurezza è dunque uno dei principali limiti e oggetto di discussione per quanto riguarda la tDCS. Oltre a quanto detto, possono essere applicati alla stimolazione con tDCS anche i criteri generali di esclusione per la stimolazione non invasiva del cervello. Tra questi si ricorda che i pazienti devono essere liberi da condizioni mediche instabili o condizioni che possano in qualche modo incrementare il rischio della stimolazione, come ad esempio l'epilessia (anche se una crisi epilettica non è mai stata osservata in uno studio pilotato in pazienti con epilessia attiva). Inoltre, i soggetti non devono avere impianti metallici vicini agli elettrodi. Infine, occorre sottolineare che molte di queste osservazioni sono state estratte da studi a singola stimolazione in soggetti sani senza trattamenti, ma meno si conosce per quanto riguarda gli effetti collaterali della tDCS giornaliera in pazienti con disordini neuropsichiatrici che utilizzano la farmacoterapia. In queste condizioni, oltre a ciò che è già stato detto, gli effetti collaterali potrebbero essere amplificati e perciò essi dovrebbero essere attivamente monitorati durante le prove. Ad esempio, alcuni studi su un singolo paziente riferiscono che la tDCS può indurre mania/ipomania in soggetti affetti dalla depressione maggiore. Pertanto, si suggerisce che il monitor medico supervisioni il trattamento della tDCS in questi contesti a maggior rischio di effetti collaterali significativi.

In conclusione, nonostante l'apparecchiatura che la compone sia così semplice dal punto di vista tecnologico la tDCS e le sue applicazioni nei diversi ambiti sono caratterizzate da una complessità di utilizzo non indifferente. È da notare d'altra parte, che la tDCS si presenta come una tecnica non invasiva ben tollerata

dai pazienti, i cui effetti collaterali sono ridotti al minimo. Questo la rende oggetto di un enorme interesse da parte di studiosi di diversi ambiti, tra cui quello clinico, in cui la ricerca delle cause che stanno alla base delle malattie e delle cure più appropriate per il loro trattamento non possono prescindere da una completa sicurezza per la salute del paziente. Tuttavia, anche se il numero di applicazioni cliniche della tecnica è cresciuto a livello esponenziale negli ultimi anni, allo stesso tempo la sua comparsa in ambito clinico ha suscitato la nascita di nuove questioni da dover risolvere. Molte sono le domande a cui dare ancora risposta, risposte che non sono ancora tutt'ora abbastanza precise, e molti sono ancora i quesiti da risolvere nella comprensione dell'esatto funzionamento della tDCS in determinati ambiti per poterne garantire l'utilizzo sicuro in ambito clinico. Uno fra tanti, oltre a quelli già citati, è di tipo metodologico. Ci si è chiesti infatti come sia possibile portare avanti studi in campi come la neuropsichiatria, storicamente basata sul sostegno farmacologico. Ovviamente non è semplice per un nuovo approccio come questo farsi largo all'interno di una realtà che da sempre ha avuto protagonisti ben diversi, non solo perché deve ancora dimostrare la propria validità ed efficacia, ma anche per lo scetticismo che si incontra da parte di coloro che ne devono usufruire. Inoltre, in molti casi non si è ancora del tutto a conoscenza dei parametri ottimali per garantire risultati soddisfacenti con le risorse disponibili. Da qui si aprono le questioni sul design da utilizzare, la tipologia di intervento da seguire, i parametri di riferimento su cui basarsi nell'analisi dei risultati e molti altri aspetti metodologici che non possono essere ignorati. Infine, è necessario stabilire quali soggetti possano o meno essere sottoposti a questo tipo di stimolazione, in quanto ogni singolo individuo presenta caratteristiche personali e uniche sia fisicamente che per quanto riguarda la patologia, rendendo necessaria la ponderazione accurata del metodo d'azione.

### **CAP 3: IL CONFRONTO**

La TMS e la tDCS appartengono entrambi alla categoria delle stimolazioni transcraniche. È interessante notare come queste due tecniche, sebbene si basino su principi simili e abbiano alcuni ambiti di

applicazione in comune, presentino anche delle notevoli differenze tra di esse. È dunque opportuno mettere a confronto i differenti aspetti delle due tecniche al fine di chiarire quali siano state e possano essere le diverse applicazioni dell'una e dell'altra.

### **3.1 CONSIDERAZIONI GENERALI SULLE DUE TECNICHE**

Innanzitutto, la TMS è una tecnica in uso da diverso tempo pertanto, nonostante i principi fisici su cui si basa siano relativamente recenti, sono stati effettuati numerosi esperimenti sul suo funzionamento e sulle sue applicazioni. La tDCS invece, nonostante si basi su principi fisici già analizzati nell'antichità, ha visto il suo sviluppo solamente negli ultimi decenni. Di conseguenza molte delle sue possibili applicazioni e persino alcuni aspetti del suo funzionamento sono tutt'ora oscuri. È da notare a questo proposito che il funzionamento cerebrale è estremamente complesso, pertanto è arduo, al di là delle differenti tecniche di stimolazione, predire o controllare determinati comportamenti della mente umana con piena consapevolezza.

Nonostante le due tecniche siano legate entrambe alla corrente inoltre, il loro principio di base è differente. La TMS utilizza come detto un campo magnetico uniforme come tramite tra la corrente prodotta all'interno della bobina e quella indotta nei tessuti cerebrali. Pertanto questa tecnica è effettivamente completamente non invasiva, in quanto non utilizza direttamente elettrodi sul capo. Differente è il funzionamento della tDCS, in cui l'utilizzo e il buon posizionamento degli elettrodi direttamente a contatto svolge un ruolo fondamentale nello svolgimento dell'esperimento.

### **3.2 SICUREZZA**

Il contatto più ravvicinato e diretto della corrente con il capo nel caso della tDCS influisce in parte anche sulle questioni di sicurezza, per la quale sono stati elencati in precedenza alcuni dei parametri. Infatti, nel caso della TMS è molto poco probabile che ci siano effetti collaterali gravi, e i campi magnetici che si creano, seppur piuttosto intensi, non vanno a creare lesioni permanenti sul tessuto cerebrale. Anche se lo

stesso si può dire della tDCS, solo in un caso infatti sono state osservate la paralisi respiratoria e motoria in concomitanza ad intensità di corrente molto elevate, ciò non toglie che il contatto degli elettrodi con lo scalpo porti alla possibilità di avere effetti quali un aumento della temperatura, o un arrossamento della pelle, soprattutto in corrispondenza dell'area sotto gli elettrodi. Inoltre, occorre prestare attenzione in questo secondo caso alla formazione di prodotti elettrochimici che potrebbero risultare dannosi per il tessuto cerebrale. È d'obbligo specificare che questi effetti sono stati osservati per correnti molto al di sopra di quelle utilizzate normalmente, per cui se si seguono determinati parametri nella stimolazione, si può affermare che entrambe le tecniche siano completamente non invasive e sicure per l'uomo.

### **3.3 STRUMENTAZIONE E PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO**

A livello tecnico e di strumentazione esistono diverse differenze tra la TMS e la tDCS. Mentre l'apparecchiatura per la TMS è piuttosto complessa, anche a causa della modulazione della corrente necessaria a creare il campo magnetico, il set della strumentazione della tDCS è piuttosto semplice, anche se questo lo rende soggetto a una facile riproduzione in differenti varianti, che rende la tecnica più difficile da uniformare a livello mondiale. In ambo i casi però, gli effetti che esse hanno sul cervello umano sono tutt'altro che semplici. Una prova di questo è che per entrambe le tecniche gli effetti che si ottengono applicandole non sono direttamente proporzionali alla durata della stimolazione, e si è tutt'oggi ancora lontani dal comprendere appieno quali siano i meccanismi che regolano il legame tra i due parametri.

Anche i principi di funzionamento delle due tecniche sono differenti. La TMS infatti, si basa sull'attivazione di potenziali soprasoglia in grado di interrompere la normale attività cerebrale (quella che è stata descritta come lesione cerebrale) e indurre un periodo silente prima della ripresa della normale attività cerebrale. È inoltre in grado di suscitare sia una prima onda diretta, e successivamente fino a quattro

onde indirette. La tDCS invece, invia una corrente anodica o catodica sottosoglia, che quindi non va ad interferire con la spontanea attività cerebrale, ma piuttosto la modula, presentandosi in questo senso come meno invasiva paragonata alla TMS. Inoltre, essa per sua natura interagisce con i canali ionici e proteici presenti nell'ambiente cerebrale ed è quindi in grado di modificare il microambiente sinaptico. Come conseguenza a queste diversità di funzionamento, le due tecniche vengono dunque influenzate da parametri differenti. Anche se per entrambe risultano di fondamentale importanza la quantità di energia fornita per la stimolazione e la sua intensità infatti, la TMS è strettamente legata alla frequenza, alla velocità del tempo di salita e infine alla configurazione e all'orientamento della bobina. La tDCS invece, è legata al numero di sessioni, alla polarità, alla durata della stimolazione, alla magnitudine e alla localizzazione della corrente indotta. Inoltre, se nel primo caso l'utilizzo del campo magnetico come vettore tra le due correnti rende trascurabile la resistenza dello strato di pelle e del cranio che si frappone tra lo strumento e il tessuto da analizzare, nella tDCS è di fondamentale importanza per il settaggio considerare la resistenza della pelle e del cranio, che tende a disperdere parte della corrente inviata. Lo stesso vale per le deformazioni o le lesioni cerebrali sulle quali si potrebbe concentrare la corrente inviata, al punto da creare degli effetti negativi o inficiare la stimolazione. Un altro parametro che occorre considerare in ambo i casi è la risoluzione. Se per la TMS è importante la geometria della bobina per ottimizzare la focalizzazione e la risoluzione sia temporale sia spaziale, per la tDCS risulta fondamentale il posizionamento degli elettrodi in maniera corretta. Da questo punto di vista la tDCS appare vantaggiosa, in quanto se gli elettrodi sono posizionati in maniera corretta, la stimolazione riesce ad avere una migliore risoluzione rispetto a quella della TMS a parità di intensità, per la quale a causa dei rumori che si accumulano aumentando la frequenza del campo, si perde di precisione proporzionalmente alla profondità. Occorre però ricordare che anche la tDCS ha un limite superiore al di sopra del quale la stimolazione risulta inibitoria, inficiandone il funzionamento.

### **3.4 MODALITA' DI STIMOLAZIONE E AMBITI DI APPLICAZIONE**

Ambo le tecniche presentano diverse configurazioni e diverse modalità di funzionamento. La TMS, come detto in precedenza, può essere utilizzata in modo anatomico o funzionale, mentre la tDCS può essere unipolare o bipolare. La differenza è che nel primo caso le due modalità differiscono per il metodo di acquisizione del segnale, mentre nel secondo caso un posizionamento dei due elettrodi in un modo o nell'altro rende possibile svolgere analisi molto diverse tra loro. Un indiscutibile vantaggio che presenta la tDCS proprio per le sue modalità di funzionamento, è quello di poter svolgere analisi in aree differenti simultaneamente, questione che diventa di fondamentale importanza nello studio di comportamenti o attività che comportano il coinvolgimento nei dei soggetti di più di un'area cerebrale. Per mezzo della TMS infatti, si è potuto notare il coinvolgimento di aree lontane dalla stimolazione negli effetti post stimolatori, tuttavia non è possibile analizzare due aree contemporaneamente in quanto il campo creato interessa solamente l'area stimolata. Sarebbe quindi necessario crearne due, che comunque non interagiscono allo stesso modo dei due elettrodi tra loro. Le applicazioni delle due tecniche infine, sono simili per ambito, ma differiscono a volte per lo scopo. Infatti mentre la TMS, ad esempio, si occupa dell'ambito motorio nello studio funzionale, nella mappatura delle aree corticali e nella valutazione dell'eccitabilità, la tDCS in questo stesso ambito ha un approccio più diretto e clinico nel miglioramento dell'apprendimento di determinate facoltà motorie o nella riabilitazione di lesioni causate da particolari patologie o danni. La TMS d'altra parte, si occupa dell'analisi e dell'aumento della plasticità cerebrale. Entrambe le tecniche sono inoltre valide in ambiti quali, ad esempio, quello della memoria, e per il trattamento di alcuni disturbi neuropsichiatrici come la depressione. Ad entrambe vengono affiancati dei farmaci in questo caso, anche se alcune delle interazioni tra farmaci e stimolazioni transcraniche non sono ancora del tutto chiare. Lo stesso si può dire degli effetti delle due tecniche su aree non

prettamente cerebrali, come ad esempio i plessi dei nervi, o per quanto riguarda i loro effetti a lungo termine. Ambo le tecniche sono in grado infatti di provocare eccitabilità o inibizione anche per un tempo molto successivo a quello durante il quale è avvenuta la stimolazione, ma i meccanismi che regolano questo fenomeno non sono ancora ben chiari. Tuttavia questa possibilità potrebbe diventare di fondamentale importanza per la cura di patologie quali appunto, la depressione, per la quale già vengono previste diverse sedute di stimolazione, che apportano benefici per quanto riguarda i sintomi depressivi dei pazienti presi in considerazione. Inoltre, la tDCS in particolare si prospetta come una valida alternativa per soggetti farmaco resistenti, per i quali i normali processi di riabilitazioni risultano insufficienti. Queste due tecniche presentano delle enormi potenzialità anche in ambito linguistico nella cura sia della dislessia, che delle afasie anche causate da danni o patologie. Con l'incremento delle malattie neurodegenerative quali l'Alzheimer e il Parkinson, è inoltre di fondamentale importanza poter analizzare i meccanismi cerebrali che stanno alla base dell'ipofunzionamento di alcune zone del cervello e poter offrire delle cure che migliorino i sintomi della malattia. Per ora la tDCS si è dimostrata di grande utilità in questo campo per quanto riguarda il riapprendimento di facoltà motorie e funzionalità normali, mentre la TMS ha svolto un ruolo consistente nell'analisi delle interazioni cerebrali sia motorie che non. Ambo le tecniche si avvantaggiano per mezzo dell'utilizzo del neuroimaging e dei modelli a computer, al fine di poter prevedere sia l'effettivo flusso di corrente all'interno del cranio, sia eventuali dispersioni o malfunzionamenti durante la stimolazione. A questo proposito, è bene sviluppare anche l'applicazione sia della TMS sia della tDCS, in ambito chirurgico per il monitoraggio sia pre operatorio che durante l'effettivo intervento.

Dunque, entrambe le tecniche svolgono già un ruolo importante in ambito sperimentale e di ricerca, e stanno cominciando ad affacciarsi all'ambito clinico, dove come già accennato è necessario combattere anche con lo scetticismo di coloro che dovrebbero usufruirne.



Naturalmente, la TMS è presente da più tempo in questi ambiti, pertanto le sue applicazioni già consolidate sono più numerose rispetto alle applicazioni che presenta la tDCS. Tuttavia, quest'ultima sta conoscendo un rapido sviluppo negli ultimi decenni grazie anche al miglioramento della tecnologia, e si crede che possa avere numerosi ambiti di applicazione, nonché essere un prezioso strumento per la comprensione della mente umana. Spesso queste tecniche vengono utilizzate insieme o comparate tra loro, al fine di poter ottenere un miglior risultato finale, o di comprendere meglio quale delle due sia la più adatta per il trattamento di determinate patologie sia neurofisiologiche che non. In ogni caso, questo utilizzo concomitante può essere anche favorevole allo sviluppo di una terapia che le comprenda entrambe, così che si compensino là dove una delle due ha qualche manchevolezza.

## BIBLIOGRAFIA

- Andre Russowsky Brunoni, Michael A. Nitsche, Nadia Bolognini, Marom Bikson, Tim Wagner, Lotfi Merabet, Dylan J. Edwards, Antoni Valero-Cabre, Alexander Rotenberg, Alvaro Pascual-Leone, Roberta Ferrucci, Alberto Priori, Paulo Sergio Boggio, Felipe Fregni, *Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): Challenges and future directions*, 2011;
- Eric M. Wassermann, Charles M. Epstein, Ulf Ziemann, Vincent Walsh, Tomàs Paus, Sarah H. Lisanby, *The Oxford Handbook of transcranial stimulation*, 2008;
- Giulio Ruffini, Fabrice Wendling, Isabelle Merlet, Behnam Molaee-Ardekani, Abeye Mekonnen, Ricardo Salvador, Aureli Soria-Frisch, Carles Grau, Stephen Dunne, and Pedro C. Miranda, *Transcranial Current Brain Stimulation (tCS): Models and Technologies*, 2013;

- L B Merabet, A Pascual-Leone, *Transcranial Magnetic Stimulation*, 2009;
- Masahito Kobayashi, Alvaro Pascual-Leone, *Transcranial magnetic stimulation in neurology*, 2003;
- Michael A. Nitsche, Leonardo G. Cohen, Eric M. Wassermann, Alberto Priori, Nicolas Lang, Andrea Antal, Walter Paulus, Friedhelm Hummel, Paulo S. Boggio, Felipe Fregni, Alvaro Pascual-Leone, *Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008*, 2008;
- Nadia Bolognini, Tony Ro, *Transcranial Magnetic Stimulation: Disrupting Neural Activity to Alter and Assess Brain Function*, 2010;
- Walter Paulus, *Transcranial electrical stimulation (tES – tDCS; tRNS, tACS) methods*, 2011.

## SITOGRAFIA

- <http://acarrara.blogspot.it/2014/06/tms-nei-primati.html>;
- <http://ang.dronet.org/strumenti/tms.html> TMS;
- <http://www.cognitiveneuroscience.it/metodiche/stimolazione-elettrica-transcranica-tes/>;
- <http://www.cognitiveneuroscience.it/metodiche/stimolazione-magnetica-transcranica/>;
- [http://www.magazine.unibo.it/archivio/2012/01/12/ictus\\_sperime ntata\\_tecnica\\_non\\_invasiva](http://www.magazine.unibo.it/archivio/2012/01/12/ictus_sperime ntata_tecnica_non_invasiva);
- <http://www.neuroscienze.net/?p=2077>;
- [http://www.newronika.it/?page\\_id=2&lang=it](http://www.newronika.it/?page_id=2&lang=it);
- <http://www.stateofmind.it/2012/03/depressione-tdcs/>;
- <http://www.stateofmind.it/2015/09/TDCS-STIMOLAZIONE-CERVELLO>;
- [http://www.treccani.it/enciclopedia/stimolazione-cerebrale-elettrica-e-magnetica\\_\(Dizionario-di-Medicina\)/](http://www.treccani.it/enciclopedia/stimolazione-cerebrale-elettrica-e-magnetica_(Dizionario-di-Medicina)/);

- [https://it.wikipedia.org/wiki/Stimolazione\\_magnetica\\_transcranica](https://it.wikipedia.org/wiki/Stimolazione_magnetica_transcranica);
- [https://www.google.it/?gfe\\_rd=cr&ei=W1JqV9vdA5HA8gez4oHIAQ#q=TDcs](https://www.google.it/?gfe_rd=cr&ei=W1JqV9vdA5HA8gez4oHIAQ#q=TDcs);

